

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Factores maternos y ambientales que determinan la  
productividad de ovejas lecheras en sistemas intensivos**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**José Luis Pesántez Pacheco**

**Directores**

**Susana Astiz Blanco**  
**Antonio González de Bulnes López**  
**Juan Vicente González Martín**

**Madrid**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Factores maternos y ambientales que determinan la  
productividad de ovejas lecheras en sistemas intensivos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

José Luis Pesántez Pacheco

Directores

**Susana Astiz Blanco**

**Antonio González de Bulnes López**

**Juan Vicente González Martín**

**Madrid, 2019**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Factores maternos y ambientales que determinan la  
productividad de ovejas lecheras en sistemas intensivos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

José Luis Pesántez Pacheco

Directores

**Susana Astiz Blanco**

**Antonio González de Bulnes López**

**Juan Vicente González Martín**

**Madrid, 2019**





**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**



UNIVERSIDAD  
**COMPLUTENSE**  
MADRID

**FACTORES MATERNOS Y AMBIENTALES  
QUE DETERMINAN LA PRODUCTIVIDAD DE  
OVEJAS LECHERAS EN SISTEMAS  
INTENSIVOS**

JOSÉ LUIS PESÁNTEZ PACHECO

**MADRID, 2019**





**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**



UNIVERSIDAD  
**COMPLUTENSE**  
MADRID

**FACTORES MATERNOS Y AMBIENTALES QUE DETERMINAN  
LA PRODUCTIVIDAD DE OVEJAS LECHERAS EN SISTEMAS  
INTENSIVOS**

Tesis Doctoral presentada por

**JOSÉ LUIS PESÁNTEZ PACHECO**

Realizada bajo la dirección de los Doctores

**SUSANA ASTIZ BLANCO**

**ANTONIO GONZÁLEZ DE BULNES LÓPEZ**

**JUAN VICENTE GONZÁLEZ MARTÍN**

**MADRID, 2019**



UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS  
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. José Luis Pesántez Pacheco,  
estudiante en el Programa de Doctorado en Veterinaria,  
de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de  
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y  
titulada:

Factores maternos y ambientales que determinan la productividad de ovejas lecheras en sistemas intensivos

y dirigida por: Susana Astiz Blanco, Antonio González de Bulnes López  
Juan Vicente González Martín

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 20 de junio de 2019

Fdo.:

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en  
la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

Dña. Susana Astiz Blanco, Doctora en Ciencias Veterinarias por la Universidad de Hannover, Alemania. Científico Titular del Departamento de Reproducción Animal del Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria.

D. Antonio González de Bulnes López, Doctor en Ciencias Veterinarias por la Universidad Complutense de Madrid. Investigador Científico del Departamento de Reproducción Animal del Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, y

D. Juan Vicente González Martín, Doctor en Ciencias Veterinarias, Profesor Titular EU del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad Complutense de Madrid.

**CERTIFICAN:**

Que la Tesis Doctoral titulada “Factores maternos y ambientales que determinan la productividad de ovejas lecheras en sistemas intensivos” presentada por José Luis Pesántez Pacheco para optar al grado de Doctor ha sido realizada bajo su dirección, cumple las condiciones exigidas para obtener dicho título y autorizan su presentación para que sea juzgada por la comisión correspondiente.

Y para que así conste, firman en Madrid, a xxx de junio de 2019.

Fdo: Susana Astiz B. Fdo: Antonio González de Bulnes. Fdo: Juan V. González





## **AGRADECIMIENTOS**

A lo largo de todos estos años he tenido la oportunidad de conocer a personas maravillosas las cuales me brindaron todo el apoyo necesario para la culminación de este trabajo. En primer lugar, quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a mis directores de tesis, Dra. Susana Astiz, Dr. Antonio González de Bulnes y Dr. Juan Vicente González Martín, quienes siempre me brindaron su apoyo y dedicación durante mi formación investigadora.

A ti Susana, por brindarme todo el tiempo necesario para resolver mis dudas, gracias por compartir de manera desinteresada todos tus conocimientos científicos, por tu paciencia, por tu preocupación con Julia y David y sobre todo gracias por hacerme sentir durante todo este tiempo como un miembro más de tu hermosa familia.

Antonio, gracias por compartir tu experiencia científica, tiempo, afecto y sobre todo tu amistad, durante todo este tiempo ha sido gratificante trabajar a tu lado y sobre todo ha sido todo un placer pertenecer al Grupo de Investigación que tu diriges, esperemos que al final podamos hacer algo en cobayos.

Juan Vicente gracias por tu dedicación, aunque han sido muy pocas ocasiones en las que nos hayamos vistos pienso que fueron las suficientes para aprender mucho de tus conocimientos.

Laura, por tu ayuda tanto en el trabajo de campo como en el laboratorio, por tu ayuda con mis primeras gráficas, me llevo tu amistad y sobre todo muy buenos recuerdos tuyos, como el día que nació David, cuando me dijiste “A poco Julia se puso de parto” y en efecto así fue.

A Fernando, por haberme abierto las puertas de tu lugar de trabajo y permitirme ejecutar mi trabajo de investigación, por tu colaboración durante los diferentes zafarranchos y brindarme toda la información necesaria de tus ovejas y sobre todo gracias por tu infinita paciencia.

A Victoria, por tus primeras enseñanzas con mis placas de ELISA, por tus comentarios tan acertados a mi trabajo, tu infinita predisposición en ayudarme a resolver mis dudas “que fueron muchas”.

A mis compañeras de doctorado Marta, Consuelo y Ana, gracias por su ayuda durante todo este tiempo y sobre todo por haber creado el mejor ambiente de trabajo.

Mis agradecimientos también van dirigidos a Pablo, Elisa y Millán por toda su colaboración en el arduo trabajo que implicó el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A Mariluz, Paloma, Mercedes, Ernesto y Raúl, gracias por su amistad e infinito apoyo moral.

A mis padres Martha y Gonzalo, gracias por el apoyo constante, por su sacrificio y por animarme constantemente a continuar con mi formación, a mis hermanos Pablo, Pedro y Pedro Pablo, por su cariño y apoyo a la distancia.

Quiero agradecer a Julia por todo el apoyo que me brindó durante todo el tiempo que estuvo conmigo de manera incondicional ya que no fue fácil para nosotros dejar todo atrás y empezar de cero una vida en un país lejano. Juntos vivimos hermosos y malos momentos, conocimos lugares de ensueño, aprendimos nuevas costumbres, forjamos grandes amistades y sobre todo aprendimos a ser padres. A mi hijo David por ser el regalo más grande que me dio la vida y la razón principal para dar lo mejor, aunque sé que eres muy pequeño pero tu carita y tu sonrisa siempre fue el sustento para seguir adelante.

A la Universidad de Cuenca y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y a sus autoridades por el otorgamiento del apoyo económico necesario que facilitaron la realización de mi estancia durante todo este tiempo.

A la granja Cerromonte y a todo su personal, por la ayuda durante brindada para la culminación de este trabajo, quedo eternamente agradecido.



## INDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>5</b>
<b>1 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>8</b>
<b>2 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....</b>	<b>11</b>
2.1 Importancia socioeconómica.....	12
2.2 Situación actual del ganado ovino en el mundo .....	13
2.2.1 Situación del ganado ovino en la Unión Europea .....	18
2.2.1.1 Situación del ganado ovino en España .....	23
2.2.1.2 Sistemas de producción ovina en España .....	29
2.2.2 Principales razas ovinas lecheras.....	31
2.2.2.1 Razas autóctonas de fomento.....	33
2.2.2.2 Razas foráneas .....	36
2.2.2.3 Lacaune: raza de interés para el presente trabajo .....	38
2.3 Factores que afectan la productividad lechera ovina .....	44
2.3.1 Factores ambientales .....	46
2.3.1.1 Factores medioambientales .....	46
2.3.1.2 Manejo nutricional .....	49
2.3.1.3 Manejo reproductivo.....	52
2.3.1.4 Otros factores de manejo: ordeño.....	55
2.3.2 Factores individuales .....	59

2.3.2.1	Genéticos .....	59
2.3.2.2	Fisiológicos .....	61
2.3.2.2.1	Gestación.....	61
2.3.2.2.2	Metabolismo.....	63
2.3.3	Factores del ambiente uterino .....	69
2.3.3.1	Programación del desarrollo .....	69
2.3.3.2	Nutrición materna.....	75
2.3.3.3	Crecimiento fetal y peso al nacimiento.....	78
2.3.3.4	Otros factores individuales .....	81
<b>3</b>	<b>PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>83</b>
3.1	Granja y características de manejo globales.....	84
3.2	Diseño de los experimentos .....	85
3.2.1	Estudio I. Comparación de dos sistemas de gestión reproductiva intensiva ovina y su asociación con los parámetros productivos, reproductivos y evolución de la población animal en una granja intensiva de producción de leche.....	85
3.2.1.1	Registro de datos y parámetros calculados .....	87
3.2.1.2	Procesado y análisis estadístico .....	89
3.2.2	Estudio II. Influencia de factores maternos sobre diferentes aspectos productivos y metabólicos de la propia oveja y su descendencia.....	90
3.2.2.1	Muestreos, medidas y determinaciones laboratoriales .....	91
3.2.2.2	Estructura en bloques de estudio II.....	93
3.2.2.3	Registro de datos y parámetros calculados .....	93

3.2.2.4	Procesado y análisis estadístico .....	96
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>98</b>
4.2	Estudio I: Comparación de dos sistemas de gestión reproductiva intensiva ovina y su asociación con los parámetros productivos, reproductivos y evolución de la población animal en una granja intensiva de producción de leche.99	
4.2.1	Características productivas y evolución de la población ovina en una granja comercial de producción intensiva de leche durante la implementación de dos sistemas de gestión reproductiva intensiva: cinco parideras o diez parideras por año.....	99
4.2.1.1	Resumen.....	99
4.2.1.2	Artículo original: doi 10.1017/S175173111700369X. ....	102
4.3	Estudio II: Influencia de factores maternos sobre diferentes aspectos productivos y metabólicos de la propia oveja y su descendencia. ....	113
4.3.1	Influencia de los factores maternos: peso, condición corporal, edad (adulta vs. cordera) y tipo de gestación sobre el perfil metabólico de ovejas lecheras y el efecto de estos sobre su descendencia.....	113
4.3.1.1	Resumen.....	113
4.3.1.2	Artículo original: doi.org/10.3390/ani9040122 .....	119
4.4	Estudio II: Influencia de factores maternos sobre diferentes aspectos productivos y metabólicos de la propia oveja y su descendencia. ....	138
4.4.1	Desafío metabólico materno durante la gestación y lactación y su asociación con la productividad y el fenotipo de la descendencia en ovejas de alta producción lechera.....	138
4.4.1.1	Resumen.....	138
4.4.1.2	Artículo original: doi.org/10.3390/ani9060295 .....	142

<b>5</b>	<b>DISCUSIÓN GENERAL .....</b>	<b>162</b>
5.1	Características de la descendencia .....	172
5.2	Factores determinantes de producción láctea.....	176
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>179</b>
<b>7</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>181</b>
<b>8</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>211</b>
8.1	Anexo 1: Otras publicaciones y comunicaciones en congresos durante la Tesis Doctoral .....	211
8.2	Anexo 2: Material suplementario estudio II .....	217



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Histórico de población ovina a nivel mundial (FAOSTAT, 2019). .....	14
Figura 2. Evolución de la producción de carne y leche a nivel mundial (FAOSTAT, 2019). .....	15
Figura 3. Evolución de la producción de leche de oveja en los diferentes continentes (FAOSTAT, 2019). .....	15
Figura 4. Evolución de la producción de carne de ovino en los diferentes continentes (FAOSTAT, 2019). .....	15
Figura 5. Producción mundial de leche de las distintas especies (FAOSTAT, 2019). .....	16
Figura 6. Distribución de la producción de leche de oveja a nivel mundial (FAOSTAT, 2019). .....	16
Figura 7. Producción mundial de leche de oveja y principal país productor de cada continente (FAOSTAT, 2019). .....	17
Figura 8. Distribución en Europa de ganaderías y censo de distintos rumiantes entre zonas clasificadas como desfavorecidas (Adaptado de Rica, (2003). ....	18
Figura 9. Distribución de la población ovina por países en la UE-28 (FAOSTAT, 2019). .....	19
Figura 10. Evolución de la producción ovina en la Unión Europea (FAOSTAT, 2019). .....	19
Figura 11. Número de ovejas por km <sup>2</sup> en los estados miembros de la UE (Eurostat, 2013). .....	20
Figura 12. Producción y uso de la leche en la UE (millones de Tm) (Eurostat, 2015). .....	21
Figura 13. Evolución de la producción de leche ovina en miles de Tm de los principales países productores del mundo (FAOSTAT, 2019). .....	24

Figura 14. Evolución del censo y ganaderías ovinas en España. Distribución de la población por comunidades autónomas (SITRAN, 2019).....	25
Figura 15. Granjas de ganado ovino destinadas a la producción de leche distribuido por comunidades autónomas (SITRAN, 2019). .....	26
Figura 16. Evolución del censo y producción de leche de ovino en España (FAOSTAT, 2019). .....	27
Figura 17. Evolución de la producción de leche de oveja en ordeño en Castilla y León (Adaptado de (Rodríguez Ruiz, 2013)).....	27
Figura 18. Evolución anual de las entregas de la producción de leche de oveja a la industria (FAOSTAT, 2019; FEGA, 2019).....	29
Figura 19. Evolución de la población de ovejas de ordeño por comunidades autónomas en los últimos años (MAGRAMA, 2018a). .....	32
Figura 20. Evolución productiva de la raza Lacaune en Francia bajo control lechero oficial (CLO) y control lechero simplificado (CLS) que se realiza en la granja, durante la fase de inicio del esquema de selección (1965–1980) y luego bajo régimen de cruce desde el año 1980 (Adaptada de (Barillet <i>et al.</i> 2016)).	40
Figura 21. Factores que afectan la productividad lechera ovina (Adaptado de (Buxadé, 1996)).....	45
Figura 22. Diagrama de la Teoría de Barker del “fenotipo ahorrador” (Adaptado de (Hales y Barker, 2001)).....	71
Figura 23. Consecuencias potenciales de las interacciones epigenéticas medioambientales sobre la salud y productividad en primera y segunda generación (Adaptado de (McMillen y Robinson, 2005)).....	72
Figura 24. Esquema de los factores medioambientales, maternos, placentarios y fetales que pueden ocasionar un retraso en el crecimiento intrauterino (IUGR) en humanos y en modelos ovinos que alteran la función placentaria, conduciendo a la hipoxia fetal e hipoglucemia ocasionando (IUGR) (Adaptado de (Morrison, 2008)). .....	74

Figura 25. Adaptaciones metabólicas, neuroendocrinas y cardiovasculares en el feto en respuesta a una reducción del suministro de nutrientes debido a una insuficiencia placentaria o debido solo a una disminución en el aporte de nutrientes (déficit nutricional), necesarias para la supervivencia a un estado de retraso del crecimiento intrauterino (Adaptado de (Morrison, 2008)).....	74
Figura 26. Peso al nacimiento y tasa de supervivencia perinatal de corderos (n=4.781) nacidos de ovejas afec–assaf, de acuerdo al tamaño de la camada (Adaptado de (Gootwine y Rozov, 2006)). .....	75
Figura 27. Resumen de las principales ventanas de desarrollo durante el periodo reproductivo de las ovejas durante las cuales la manipulación de la nutrición materna modula significativamente el desarrollo placentario y fetal. Los recuadros en gris representan las ventanas de plasticidad del desarrollo con respecto a órganos individuales (Adaptado de (Symonds <i>et al.</i> 2007)).....	76
Figura 28. Parideras programadas, número de animales y distribución a lo largo del año durante dos sistemas de gestión reproductiva diferente: 5–PP (cinco parideras/año) y 10–PP (10 parideras/año) en una granja intensiva de ovejas Lacaune de leche. ....	87
Figura 29. Esquema de los animales incluidos y eliminados, y las cohortes estudiadas en una granja de ovejas lecheras de raza Lacaune de alta producción en sistema intensivo. ....	91
Figura 30. Seguimiento, datos registrados y muestreos realizados sobre las ovejas adultas gestantes (panel a) y sobre corderas gestantes (panel b) incluidas en el estudio en una granja de ovejas lecheras de raza Lacaune de alta producción en sistema intensivo. ....	92

## **INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Evolución de la producción de leche ovina en miles de Tm en los principales países productores de la UE (FAOSTAT, 2019). .....	22
Tabla 2. Evolución del número de granjas de ganado ovino por clasificación zootécnica en España (SITRAN, 2019).....	24
Tabla 3. Características productivas de la raza Lacaune bajo las condiciones productivas de distintos países. ....	42

## **ABREVITURAS UTILIZADAS**

UE. Unión Europea

km<sup>2</sup>. Kilómetro cuadrado

kg. Kilogramo

l. Litro

Tm. Tonelada métrica

ha. Hectárea

MAGRAMA. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente

SITRAN. Sistema Integral de Trazabilidad Animal

DOP. Denominación de Origen Protegida

FEGA. Fondo Español de Garantía Agraria

FEAGAS. Federación Española de Asociaciones de Ganado Selecto

BOE. Boletín Oficial del Estado

UAGCYL. Unión de Asociaciones Ganaderas para el Control Lechero en Castilla y León

ASSAF.E. Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de la Raza Assaf

UPRA. Organismo de control para la selección de la raza Lacaune

OVITEST. Centro Francés de inseminación y selección de la raza Lacaune

CLO. Control Lechero Oficial

CLS. Control Lechero Simplificado

DOC. Denominación de Origen Controlado

SNP. Polimorfismo de Nucleótido Simple (*Single Nucleotide Polymorphism*)

AESLA. Asociación Española de Criadores de Ovino Selecto de Raza Lacaune

OVIGEN. Centro de Selección y Mejora Genética de Ovino y Caprino de Castilla y León

COVAP. Cooperativa Ganadera del Valle de los Pedroches

TAE. Temperatura Ambiental Efectiva

RH. Humedad Relativa (*Relative Humidity*)

THI. Índice de Temperatura–Humedad (*Temperature–Humidity Index*)

ADN. Ácido Desoxirribonucleico

BEN. Balance Energético Negativo

CAMAL. *Cornell Alternative Month Accelerated Lambing*

kPa. Kilopascal

MAS. Selección Asistida por Marcadores (*Marker Assisted Selection*)

GAS. Selección Asistida por Genes (*Gene Assisted Selection*)

DGAT1. Diacilglicerol-Acil-Transferasa 1 (*Diacylglycerol O-Acyltransferase 1*)

PC. Piruvato Carboxilasa

NEFA. Ácidos Grasos no Esterificados (*Non-Esterified Fatty Acids*)

ATP. Adenosín Trifosfato

mmol/l. milimol por litro

mg/dl. miligramo por decilitro

$\beta$ HB.  $\beta$ -hidroxibutirato

RDP. Proteína Degradable en el Rumen (*Rumen Degradable Protein*)

CC. Condición Corporal

RIUC. Retraso del Crecimiento Intrauterino

TMRS. Sistema de Ración Total Mezclada (*Total Mixed Ration System*)

IMC. Índice de Masa Corporal

# RESUMEN/SUMMARY

---



## RESUMEN

En ovino lechero, una mayor rentabilidad viene determinada por un alto nivel de producción con menor coste y distribución uniforme durante el año, que asegura la disponibilidad de leche en épocas de menor oferta y mayor precio y permite distribuir homogéneamente la carga de trabajo anual. Estos factores sólo pueden ser optimizados mediante sistemas de gestión y manejo más intensivos, que implican empleo de razas altamente productivas, aumento del censo de animales por granja, mejora de instalaciones, ordeño mecanizado, destete precoz y lactancia artificial, y contratación de personal cualificado.

Especial mención merece el manejo reproductivo del rebaño, encaminado a optimizar la precocidad, fertilidad y número de partos por oveja y año; la consecución de estos objetivos permite reducir al máximo el número de días improductivos de cada oveja y asegurar una relación favorable entre nivel y coste de producción. El siguiente objetivo que permite elevar la rentabilidad de la granja es la distribución de la producción a lo largo del año mediante un ritmo reproductivo más intensivo (más parideras/año), pero evitando consecuencias negativas sobre el bienestar y la salud de los animales. Sin embargo, existe poca información sobre los efectos, individuales y en el rebaño, de estos sistemas intensificados.

Por ello, el objetivo general del trabajo experimental de la presente Memoria de Tesis Doctoral buscaba valorar los factores determinantes de la productividad de ovejas de alta producción lechera en un novedoso sistema de producción intensivo (10 parideras/año), con especial énfasis en los factores maternos (individuales, productivos y metabólicos) y su influencia sobre la progenie.

Para su consecución se diseñaron dos fases experimentales en una granja comercial de ovejas lecheras Lacaune en producción intensiva. En una primera fase, se buscaba comparar la eficiencia, valorando parámetros productivos y reproductivos, de un sistema de gestión reproductivo basado en 10 parideras/año respecto de uno clásico con 5 parideras/año. La segunda fase

experimental valoró, en este sistema más intensivo, la influencia de los factores maternos (edad, gestación simple o múltiple, condición corporal y producción lechera) sobre el perfil metabólico y la evolución de la condición corporal materna durante la gestación y el postparto; y su influencia sobre el nivel de producción láctea en la misma y subsiguiente lactación y el fenotipo de los corderos.

En la primera fase, el análisis comparativo de 11.250 lactaciones en el sistema de cinco parideras/año (5–PP) y 7.341 lactaciones en el sistema propuesto de diez parideras/año (10–PP) señaló que este último sistema supone una importante mejora en la producción anual de cada oveja, ya que aumenta la producción total y la duración de cada lactación, aumenta la longevidad de cada oveja y disminuye el porcentaje de lactaciones improductivas; a pesar de aumentar el intervalo parto–parto y, consecuentemente disminuir los partos por oveja y año sin afectar la prolificidad. Además, el sistema 10–PP facilita una mayor uniformidad de la carga de trabajo durante el año, con menos partos y corderos por trabajador y día. En definitiva, consideramos el sistema intensificado de 10–PP como mejorante y estrategia a seguir.

El análisis de las gestaciones y lactaciones en la segunda fase de este estudio señalan la edad de la oveja como el principal factor determinante en la evolución del peso y la condición corporal durante la gestación (mayores descensos en corderas), mientras que el efecto del tipo de gestación sólo afectó al peso en ovejas adultas (mayor peso en animales con gestación múltiple). El análisis de los valores plasmáticos de los diferentes metabolitos (glucosa, lactato, colesterol, triglicéridos,  $\beta$ -hidroxibutirato [ $\beta$ HB], ácidos grasos no esterificados [NEFA] y urea), siempre dentro de valores fisiológicos, mostró de nuevo una fuerte influencia de la edad de la oveja, modulada por interacciones con tipo de gestación y condición corporal, sobre el desafío metabólico impuesto por la gestación.

En el caso de las ovejas adultas, se observó una relación significativa entre el nivel de producción lechera y los cambios en el peso, la condición corporal y el

metabolismo; ovejas con mayor producción lechera mostraron niveles más altos de glucosa, colesterol,  $\beta$ HB, NEFA y urea, y menores de triglicéridos y lactato durante toda la gestación y mantuvieron mayor peso y condición corporal al final de la gestación.

La edad y condición corporal de la madre y el tipo de gestación afectaron también al peso al nacimiento de los corderos, junto con su propio sexo. Los machos pesaron más que las hembras y los partos de corderas (primíparas), de ovejas con menor condición corporal, y gemelares fueron más livianos, aunque la mayoría de las diferencias se habían compensado a los 17 días de edad. La producción de leche materna no afectó directamente al peso al nacimiento de los corderos; pero sí a su desarrollo durante los 17 primeros días, siendo mayor en corderos procedentes de madres con alta producción. Sí debe señalarse que los corderos nacidos de madres con alta producción durante el mes de concepción pesaron más al nacimiento que los nacidos de madres con baja producción en ese periodo. Por el contrario, se observó muy poca relación entre el perfil metabólico materno y el fenotipo morfológico y metabólico del cordero, ya que algunos de los parámetros metabólicos del cordero (glucosa, colesterol y triglicéridos) se vieron afectados por su sexo, pero no por la edad ni el tipo de gestación de la madre.

La producción en la lactación subsiguiente estaba relacionada positivamente con la edad, incremento de condición corporal, tipo de gestación, y peso y tamaño del cordero nacido; existió también una relación con el sexo de este, ya que las madres de machos produjeron más que las madres de hembras. Asimismo, se observó que hembras con mayores niveles de glucosa, colesterol,  $\beta$ HB y NEFA y menores de lactato y urea durante la gestación previa produjeron más tras el parto.

Estos resultados reflejan la gran adaptación de estas ovejas para cubrir las demandas de nutrientes durante la gestación (y lactación en caso de adultas) incluso en gestaciones múltiples, demostrando que la oveja lechera en sistemas

intensivos de producción y adecuado manejo no incurre en desequilibrios metabólicos patológicos.

## SUMMARY

In dairy sheep, a greater profitability can be achieved by a higher level of production and/or lower costs and/or a more even distribution of production during the year. This latter point ensures the availability of milk during periods of lower supply (higher price) and allows to distribute homogeneously the annual workload. These factors can be optimized through a more intensive management, which involves the employment of highly productive breeds, the increase of the size of the flock, the improvement of facilities, the mechanized milking, the early weaning and artificial lactation, and the recruitment of qualified personnel at the farms.

Especially relevant is the reproductive management, aiming at optimizing precocity, fertility and number of lambings per sheep and year. These objectives reduce the number of nonproductive days of each sheep and assure a favorable balance between production and costs of production. Another objective that allows the profitability to grow is the more even distribution of the production throughout the year. This can be achieved through a more intensive reproductive rhythm (more lambing-groups per year) but avoiding possible negative consequences on welfare and health of the animals. However, there is little information about the effects of these intensive systems on the individual.

Therefore, the general objective of this Doctoral Thesis Report was to assess the determinants of the productivity of high milk yielding sheep in a novel, intensive, production system (with 10 lambing periods per year or 10-P), with special emphasis on the maternal factors (individual, productive and metabolic) and their influence on the offspring.

Therefore, two experimental phases were designed and performed in a commercial Lacaune dairy farm. During the first phase, we aimed at comparing the efficiency of two management systems, assessing productive and reproductive parameters. The compared systems were one based on 10 lambing periods per year (10-P) and the other, a classic one with 5 lambing periods per

year (5-P). The second experimental phase evaluated the influence of maternal factors (age, simple or multiple pregnancy, body condition and milk production) on the metabolic profile and the evolution of the maternal body condition during pregnancy and postpartum on ewes under the 10-P system. The effect on the milk yield in the same and subsequent lactation and on the phenotype of the lambs were also assessed.

The systems comparative analysis included 11 250 lactations in the 5-P period and 7 341 lactations in the new 10-P system. The latter one related to a significant improvement in the annual production per sheep (increased total production and length of lactation), to an increased longevity and to a decrease in the percentage of nonproductive lactations. This occurred despite increasing the interval lambing-lambing and, consequently, reducing the number of lambings per sheep and year. In addition, the 10-P system induced a greater uniformity of the workload during the year, with fewer lambings and lambs per worker per day to be assisted. In brief: we consider the intensified 10-P system as an improvement and a better management strategy for dairy ovine farms.

The analysis of the gestations and lactations during the second phase of this study indicated the age of the sheep as the main determining factor in the evolution of weight and body condition during pregnancy (greater decrease in maiden sheep), while the effect of the type of pregnancy (single vs. multiple pregnancy) only affected the weight in adult sheep (greater weight in animals with multiple pregnancy). The plasmatic values of different metabolites (glucose, lactate, cholesterol, triglycerides,  $\beta$ -hydroxybutyrate [ $\beta$ HB], non-esterified fatty acids [NEFA] and urea), were always within physiological values and showed a strong influence of the age, modulated by interactions with type of pregnancy and body condition.

In the case of adult sheep, a significant relationship was observed between the level of milk production and changes in weight, body condition score and metabolism; sheep with higher milk production showed higher levels of glucose, cholesterol,  $\beta$ HB, NEFA and urea, and lower triglycerides and lactate throughout

pregnancy and maintained higher body weights and body condition scores at late pregnancy.

The age and the body condition score of the ewe and the type of pregnancy affected also the birth weight of the lambs, together with their own sex. Males were heavier than females, and lambs born to primiparous sheep with less body condition, and twin pregnancies were lighter, although most differences were compensated at 17 days age. The maternal milk production did not directly affect the weight of the newborns; but it affected their growth during the first 17 days of life, with this being higher in lambs from dams with higher production. Lambs born to ewes with a high milk yield during the month of conception weighed more at birth than those born to mothers with lower production. On the contrary, a weak relationship was observed between the maternal metabolic profile and the morphological and metabolic phenotype of the lambs, with some lambs' metabolic parameters (glucose, cholesterol and triglycerides) being affected by their sex, but not by the age or the type of pregnancy of their mothers.

Milk yield during the subsequent lactation correlated positively with age, body condition score, type of pregnancy, and weight and size of the newborn; there was also a relationship with the sex of the lamb born, with mothers of males producing more than the mothers of females. Likewise, we observed that females with higher levels of glucose, cholesterol,  $\beta$ HB and NEFA and lower lactate and urea during the previous pregnancy produced more milk after the lambing.

These results reflect the great adaptation of these sheep to cover successfully the demands of nutrients during pregnancy (concomitant to lactation in the case of adult sheep and to growth in the case of maiden sheep) even when multiple pregnancy, demonstrating that dairy Lacaune sheep under intensive production management systems and adequate managing do not imply any pathological metabolic imbalance.

## 1 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad, la mayor parte de la producción ovina lechera está concentrada en países europeos y del Medio Oriente. España es el sexto productor mundial de leche de oveja, con una aportación del 5% del total en el mundo. La mayoría de esta producción se destina a la elaboración de diferentes derivados lácteos (principalmente quesos). La producción ovina lechera se basa en sistemas de producción extensivos (tradicionales o de pastoreo), semi-intensivos e intensivos, basados en razas autóctonas o foráneas. Cada una de estas modalidades productivas tiene su razón de ser e introduce una mejora socio-económica en su entorno.

La producción ovina que se desarrolla bajo estos sistemas puede verse influida por numerosos factores que ejercen su acción a lo largo del ciclo productivo de la oveja, lo que repercute de manera directa en su productividad y, por consiguiente, en la rentabilidad y sostenibilidad de la ganadería. En el presente trabajo nos centramos en un modelo de producción láctea intensivo: estabulación permanente sin acceso a pastos, con alimentación totalmente controlada, ordeño mecánico y sin amamantamiento del cordero.

Entre los factores que afectan específicamente a este sistema intensivo, podemos señalar los factores individuales propios del animal (genéticos y fisiológicos), difíciles de modificar mediante estrategias de manejo, y los factores ambientales (alojamiento, sanidad, alimentación, manejo reproductivo, ordeño), sobre los que podemos actuar de forma directa a través de estrategias de manejo. La optimización de estos factores ambientales desde el punto de vista de gestión de la producción permite beneficios a corto y medio plazo.

Entre ellos destaca el ritmo reproductivo, por la inmediatez de los resultados, tanto en producción de carne como de leche. Así, una de las estrategias para optimizar la producción ovina y elevar la sostenibilidad de las granjas se basa en la intensificación del ritmo reproductivo, la implementación de estrategias de manejo tendentes, desde el punto de vista individual, a maximizar el número de



partos/oveja/año (minimizando los días improproductivos/oveja/año) y, desde el punto de vista colectivo, aumentando el número de parideras/año en la granja y aumentando su vida productiva medida en base al total de partos obtenidos. Estas actuaciones permitirían maximizar la productividad de tanto de las ovejas como global de la granja posibilitando un suministro de leche y una distribución de la carga de trabajo más homogénea durante todo el año.

Por otro lado, actualmente se sabe que los factores ambientales que afectan el nivel productivo de cada animal no intervienen sólo durante el periodo de vida postnatal, sino también durante el prenatal (concretamente, el ambiente uterino durante la etapa fetal). A su vez, el medio ambiente uterino está muy determinado por los factores maternos; genéticos y fisiológicos, pero también ambientales (alojamiento, alimentación, sanidad, manejo reproductivo, ordeño). Además, los factores ambientales influyen sobre el nivel productivo de cada animal y este nivel productivo, a su vez, determina un ambiente metabólico propio, que influye en el ambiente uterino cerrando el ciclo. La relevancia y posible influencia de estos ritmos reproductivos producto de estrategias de manejo en los sistemas intensivos, tanto sobre las ovejas productoras como en su descendencia, han sido escasamente estudiadas.

Estas consideraciones justifican el planteamiento experimental de la presente Memoria de Tesis Doctoral, realizada en un rebaño de ovejas lecheras Lacane de alta producción mantenidas en régimen intensivo, con el objetivo general de valorar los *factores determinantes de la producción ovina en un sistema intensificado de producción lechera de 10 parideras por año, con especial énfasis en los factores maternos (individuales, productivos y metabólicos) con influencia sobre la progenie*. Para la consecución de este objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos específicos.

1. Determinar la eficiencia de un sistema de manejo reproductivo intensivo con 10 parideras al año (es decir, parideras prácticamente continuas) y su relación con la productividad y bienestar de la granja.

2. En este sistema intensivo, evaluar la influencia de los factores maternos -concretamente, edad (adulta o cordera), tipo de gestación (simple o múltiple) y condición corporal al inicio de la gestación- sobre el perfil metabólico y la evolución de la condición corporal materna durante la gestación y el postparto y su influencia sobre los parámetros metabólicos y peso al nacimiento de la descendencia.
3. En el mismo sistema, evaluar la intensidad del desafío metabólico materno durante la gestación (incrementado por la lactación concomitante en el caso de ovejas adultas) y su influencia sobre el fenotipo de los corderos nacidos.
4. En el sistema intensivo de 10–PP, evaluar la influencia de los factores maternos, en cuanto edad de la oveja (adulta y cordera), tipo de gestación (simple o múltiple), condición corporal y perfil metabólico durante la gestación sobre la productividad láctea subsiguiente a dicha gestación.
5. Evaluar la influencia de los factores del cordero neonato (peso, sexo y sexo de los hermanos) sobre la productividad de lactación subsiguiente a dicha gestación, en este sistema intensivo de manejo reproductivo de 10–PP.

## **2 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS**

## 2.1 Importancia socioeconómica

La oveja (*Ovis aries*) fue uno de los primeros rumiantes en ser domesticados por el hombre, hace más de 10.000 años en el periodo Neolítico, en Asia Central (Gowane *et al.* 2017). Desde la domesticación de esta especie, ésta se ha distribuido en la mayoría de las regiones del todo el mundo y se ha utilizado para el aprovechamiento de tres productos principales: lana, carne y leche; además de las pieles como subproducto. Desde el punto de vista zootécnico, el ovino es una especie de tamaño pequeño que requiere poco espacio y poco trabajo para su crianza, circunstancia ideal para que se pueda adaptar y producir en entornos difíciles (topografía accidentada), áridos y con poca disponibilidad de forraje. Los ovinos, por sus preferencias de pastoreo, son capaces de alimentarse de maleza, arbustos, residuos de cultivos agrícolas y otras plantas que otras especies de animales domésticos tienden a rechazar. Por otro lado, en condiciones adecuadas pueden tener una prolificidad elevada, lo que les hace idóneos como contribución a la economía de pequeñas granjas familiares (Pollott y Wilson, 2009). Asimismo, el ovino constituye un sector importante que frena la despoblación humana del campo ayudando al mantenimiento del medio rural (Riedel *et al.* 2007; Castel *et al.* 2011), la conservación del medio ambiente (Castel *et al.* 2011) y la elaboración de productos de alta calidad. Es así que la producción ovina en condiciones de pastoreo tiene beneficios ambientales que se derivan de la producción de estiércol que mejora la fertilidad y estructura del suelo y del reciclaje de nutrientes, evitando fenómenos de erosión del suelo (Pollott y Wilson, 2009), en lo que actualmente se llama circularidad de la bioeconomía (European Environmental Agency, 2018). Así, la producción ovina bajo condiciones de manejo tradicionales o de pastoreo y semi-intensivos que contribuye al mantenimiento de los ecosistemas (Mollard *et al.* 2003). Por otro lado, es una especie que posee razas que se adaptan perfectamente a una producción más intensiva donde la exigencia de personal de trabajo aumenta, con unas condiciones laborales adaptadas al ritmo de vida actual, fijando población en el campo y mejoran también las condiciones del propio establecimiento/granja al contar con una mayor producción, elevando su sostenibilidad como negocio (Hernández *et al.* 2011).

## 2.2 Situación actual del ganado ovino en el mundo

A escala mundial, el número de ovejas ha aumentado constantemente durante los últimos años a diferencia de la mayoría de las otras especies de ganado utilizadas por el hombre. Este crecimiento ha sido diferente entre continentes (Figura 1); según los últimos datos oficiales de la FAO (FAOSTAT, 2019), la población ovina se ubica en más de 1.202 millones de ovinos, siendo Asia la región con mayor población ovina (42,2% Figura 1). Un dato importante es que el número de ovejas ha aumentado rápidamente en los continentes que presentan las regiones con menor desarrollo (FAOSTAT, 2019).

En la actualidad, un 70% de esta población se destina a la producción de carne y un 30% a leche; en cambio, la producción de lana, el otro producto importante, va en decremento a raíz de la sustitución de las fibras naturales por las sintéticas en la industria textil (y por la lana china).

China, en la actualidad, es el principal productor, con más de 188 millones de ovinos; de estos 147 millones se destinada a la producción de carne y 41 millones de ovejas a la producción de leche.

África es el segundo productor mundial de ovino (32%), destinándose un 62% de los animales a la producción de carne y un 39% a la producción de leche. La mayor población ovina de este continente se ubica en Sudán y Argelia, con una población de 37 y 27 millones de ovinos, respectivamente.

Europa es el tercer continente en censo de ovejas (11%), dedicando la mayor parte de esta población a la producción cárnica (70%) y un 30% a la producción láctea. Reino Unido es el mayor productor ovino con 34 millones de animales seguido de Rusia (22 millones), Rumania (16,1) y España (15,9 millones).

Oceanía aporta solo el 8,2 % de la población ovina mundial, que se utiliza sólo para carne y se reparte entre Australia (72 millones de ovejas) y Nueva Zelanda (27 millones de ovejas). Por último, la mínima población de ovinos la aporta el continente americano (6,7%) siendo los mayores productores Argentina, con 17 millones de ovinos, y Brasil, con 14 millones de ovejas.

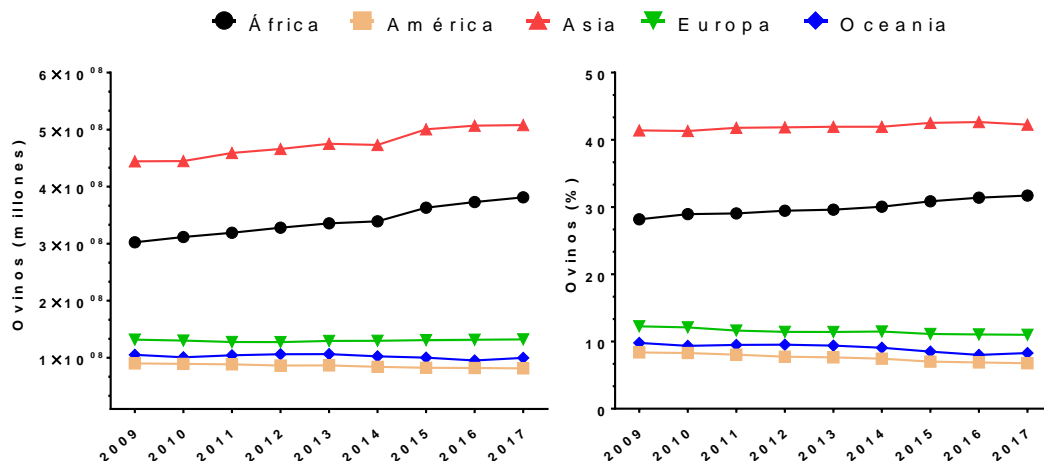


Figura 1. Histórico de población ovina a nivel mundial (FAOSTAT, 2019).

En la actualidad, la producción mundial ovina, tanto de carne como de leche, está en continuo crecimiento (Figura 2). Los continentes que reflejan más intensamente este crecimiento es Asia seguida de África y Europa (Figura 3 y Figura 4).

La leche se considera uno de los productos agrícolas más valiosos. Según datos oficiales de la FAO (FAOSTAT, 2019) en 2017 se estimó una producción total de 827 millones de Tm, siendo cinco las principales especies productoras: vaca (81,6%), búfala (14,5%), cabra (2,3%), oveja (1,3%) y camella (0,3%); (Figura 5). En términos de producción por tonelaje, la producción láctea mundial ocupó el tercer lugar y fue el producto agrícola más importante en términos de valor en 2017.

Actualmente, la leche supone el 27% del valor agregado global del ganado y el 10% de la agricultura. El continuo crecimiento de la producción lechera se debe, en parte, al crecimiento de la población y, en parte, al aumento del consumo de leche total por habitante, ya que se produce y consume básicamente en todos los países del mundo y en la mayoría de ellos, se posiciona entre los primeros cinco productos agrícolas, tanto en términos de cantidad como de valor nutricional (FAOSTAT, 2019).

## Antecedentes bibliográficos

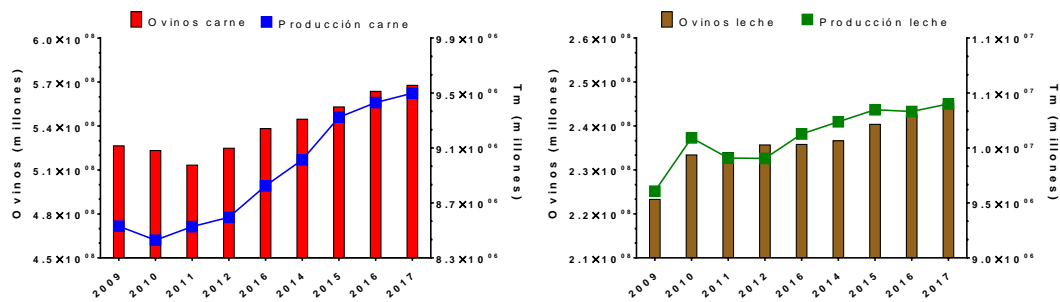


Figura 2. Evolución de la producción de carne y leche a nivel mundial (FAOSTAT, 2019).

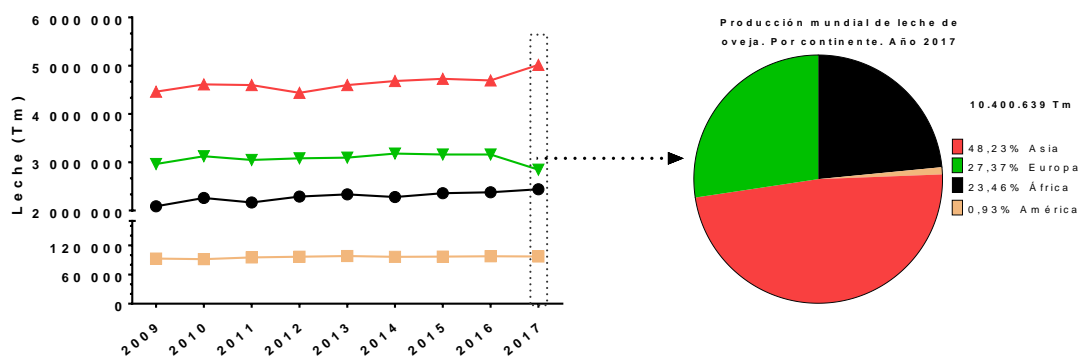


Figura 3. Evolución de la producción de leche de oveja en los diferentes continentes (FAOSTAT, 2019).

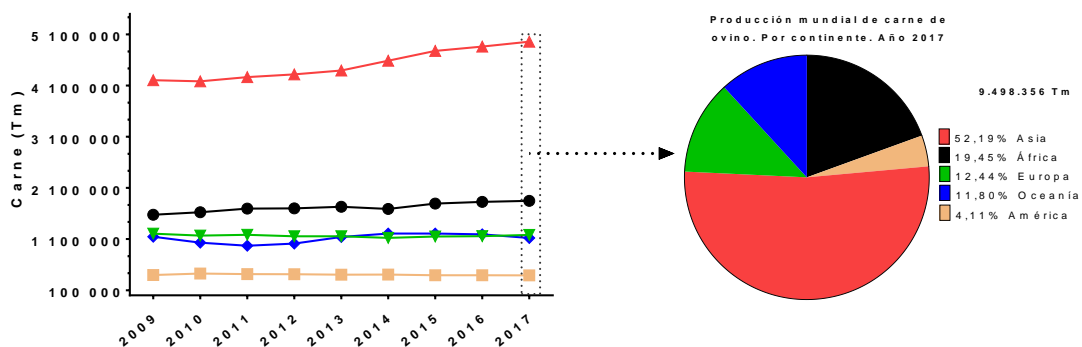


Figura 4. Evolución de la producción de carne de ovino en los diferentes continentes (FAOSTAT, 2019).

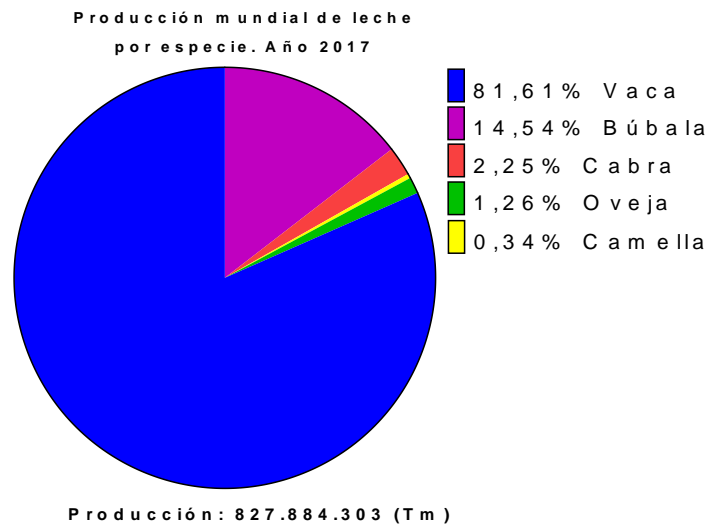


Figura 5. Producción mundial de leche de las distintas especies (FAOSTAT, 2019).

El sector ovino lechero, a pesar de tener un aporte menor en la producción mundial, es de particular importancia para la denominada “economía de subsistencia” ya que es fundamental para la satisfacción de las necesidades humanas sociales en aquellos países en vías de desarrollo, por cuanto el 65% del censo mundial ovino se ubica en estos países. Además de mantenerse en una infinidad de sistemas de producción, que varían entre continentes y países según las necesidades y condiciones de cada región, la distribución de estos sistemas no es homogénea, sino que se concentran en determinadas zonas (Figura 6).

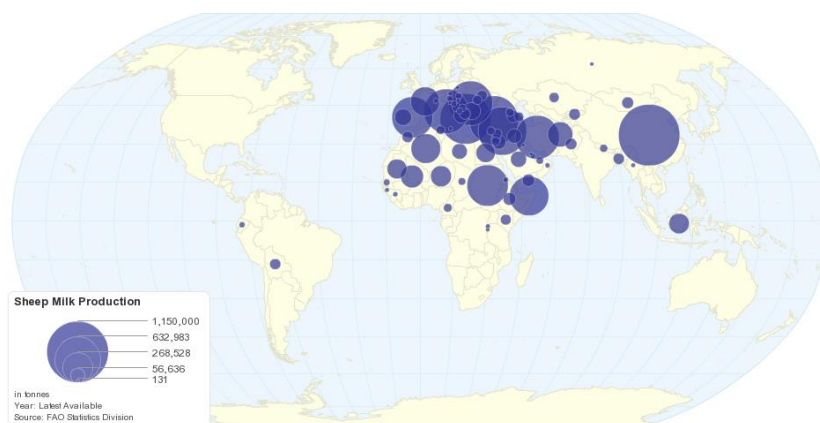


Figura 6. Distribución de la producción de leche de oveja a nivel mundial (FAOSTAT, 2019).



La mayor parte de la leche de oveja se produce en la región mediterránea, Asia Interior y Oriente Próximo, donde la producción láctea ovina cuenta con valoración y tradición (Caja y Such, 1991). El continente asiático es el que más aporta en volumen de producción (Figura 7); siendo Turquía el país líder, con una producción actual de más de 1,3 millones de Tm. El segundo continente productor de leche es el europeo, con la mayor parte de su producción situada en el área mediterránea, que aporta el 27% de la producción mundial. El tercer continente en términos de producción de leche de oveja es el africano, que aporta el 23% de la producción mundial. Si bien Europa cuenta con una población ovina lechera que representa sólo el 11% del censo mundial, esta región, en términos de rendimientos por unidad animal, es la más productiva (FAOSTAT, 2019). El país europeo con mayor producción lechera es Grecia, con 732.000 Tm de leche en el año 2017. En otros continentes como América, el mayor productor de leche es México con 57.754 Tm.

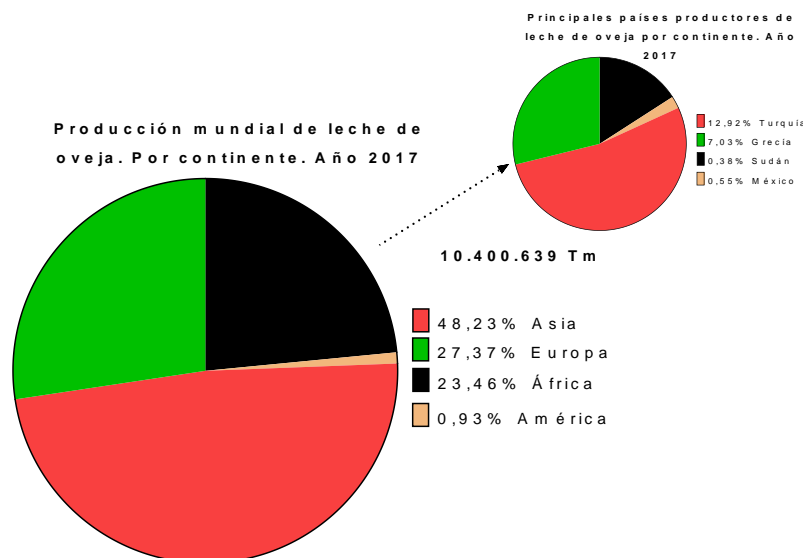


Figura 7. Producción mundial de leche de oveja y principal país productor de cada continente (FAOSTAT, 2019).

En Europa se considera también que el ganado ovino tiene un papel esencial en la fijación de la población humana en regiones desfavorecidas, dadas sus características etológicas y fisiológicas que permiten su cría en medios difíciles para otros rumiantes más exigentes como los bovinos. Así pues, las ovejas son

capaces de pastar y mejorar las formaciones vegetales de la estepa de matorral mediterráneo, cuentan con un periodo de lactancia reducida (3–4 meses) que reduce las necesidades hídricas permitiendo una mejor adaptación a climas áridos y además tiene la capacidad de desplazarse largas distancias sin disminuir su productividad (Meuret, 2006; Poux *et al.* 2009). De hecho, tal y como se puede apreciar en la Figura 8, más del 90% del censo de ovino en Europa se sitúa en zonas desfavorecidas (Poux *et al.* 2009).

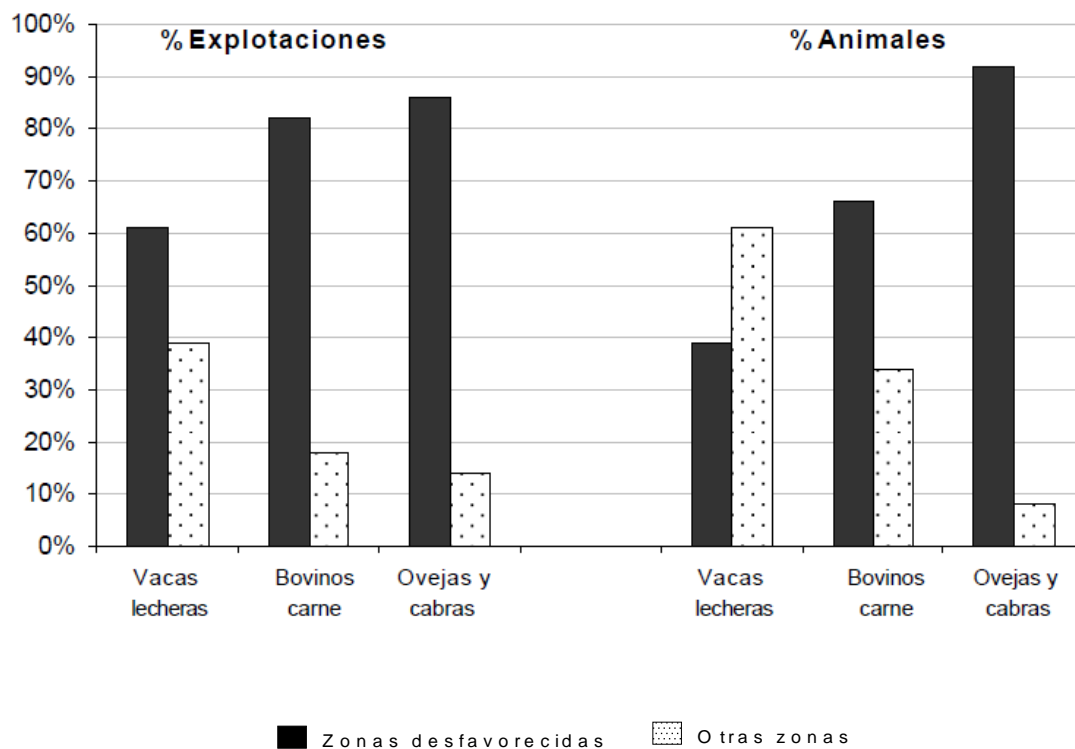


Figura 8. Distribución en Europa de ganaderías y censo de distintos rumiantes entre zonas clasificadas como desfavorecidas (Adaptado de Rica, (2003).

### 2.2.1 Situación del ganado ovino en la Unión Europea

La Unión Europea (UE) tiene un papel importante en la producción mundial de pequeños rumiantes; según datos oficiales de la FAO (FAOSTAT, 2019), existe en Europa una población aproximada de 89 millones de cabezas, de las cuales los ovinos representan el 91%. Rumania (18,5%) y Reino Unido (18,1%) son los principales países en censo en ovinos de todos los países miembros de la UE,

y representan cerca de la mitad de la población de ovinos de la UE (FAOSTAT, 2019) (Figura 9). A continuación, se sitúan Grecia, España e Italia.

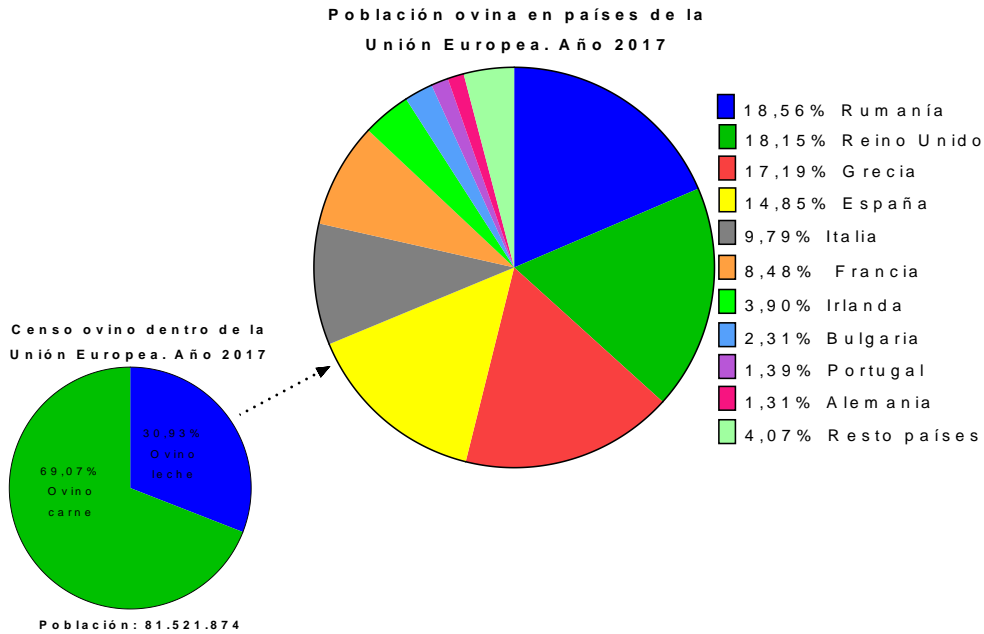


Figura 9. Distribución de la población ovina por países en la UE-28 (FAOSTAT, 2019).

Sin embargo, la población ovina ha ido en declive con los cambios en la política de cada país (eliminación de subvenciones a la producción) y el brote de enfermedades epidémicas (lengua azul, entre otras), cayendo en un 16% en el periodo comprendido entre 2000 y 2016 (Rossi, 2017) (Figura 10).

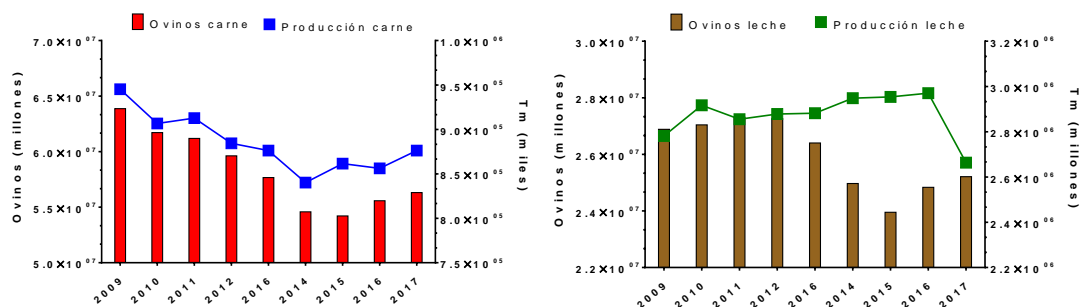


Figura 10. Evolución de la producción ovina en la Unión Europea (FAOSTAT, 2019).

En la UE, actualmente, hay más de 850.000 granjas ovinas, lo que corresponde al 14% del total de las granjas de la UE, con una media de 113 ovejas/granja.

Sin embargo, debido a las especializaciones tradicionales locales y estructurales agrícolas y situaciones de mercado en toda la UE, estas cifras varían significativamente entre los estados miembros; siendo el Reino Unido el país con mayor número de granjas de ovino y ocupa el primer lugar en cuanto al número de ovejas por km<sup>2</sup> en la mayoría de sus regiones, le siguen Grecia y Chipre y, en menor medida algunas regiones de Cerdeña y España (Rossi, 2017) (Figura 11).

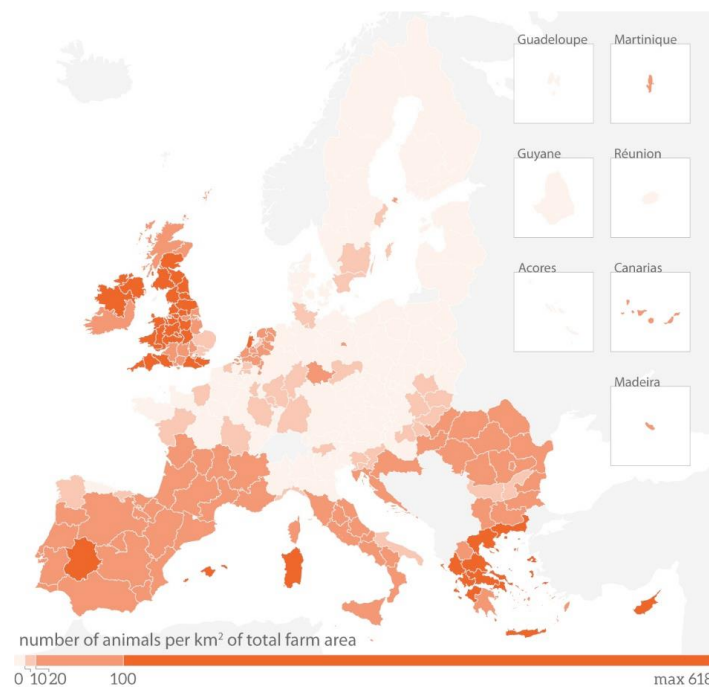


Figura 11. Número de ovejas por km<sup>2</sup> en los estados miembros de la UE (Eurostat, 2013).

La producción ovina presenta marcadas diferencias entre las regiones que componen la UE. La producción ovina primaria en la UE se basa en un sistema de producción de carne de cordero pesado, distribuida en toda la UE, pero sobre todo en los países del norte de Europa. En el caso de los sistemas lecheros, con granjas que se localizan predominantemente en el área de Europa Mediterránea y Mar Negro (Rossi, 2017), la venta de cordero lechal al destete con peso vivo <25 kg supone un ingreso extra (se define como cordero liviano).

La UE produce el 27,3% de toda la leche de oveja del mundo, suponiendo el 93% de la producción de Europa (FAOSTAT, 2019). Durante 2015, la cantidad de leche producida en la UE fue de 168 millones de Tm, de las cuales, el 97% era leche de vaca y el 3% de pequeños rumiantes (Figura 12). La producción de leche de oveja dentro de la UE no ha parado de crecer, pasando de poco más de 2,6 millones de l en el año 2000 a superar los 2,9 millones de l en 2016, lo que supone un incremento cercano a 300.000 l. Sin embargo, la producción durante 2017 disminuyó a 2,6 millones de l (FAOSTAT, 2019). El incremento de producción previo se debió; tanto al aumento de la población, como al aumento del consumo de derivados lácteos de ovino. La mayor parte de la producción se comercializa en lecherías y el resto se procesa en la misma granja para autoconsumo o para venta directa (Figura 12).

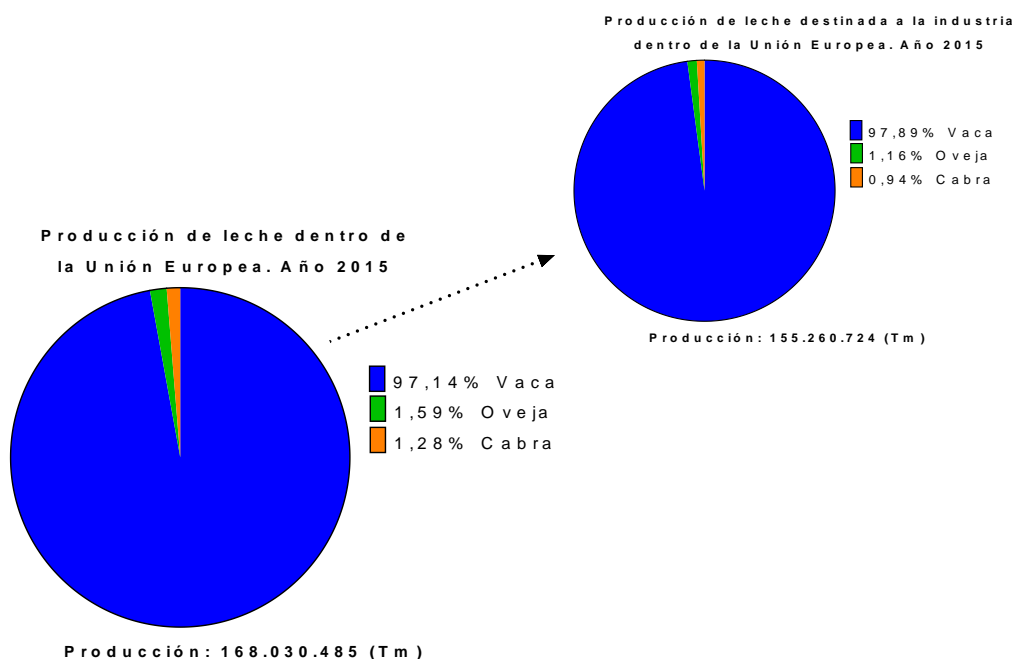


Figura 12. Producción y uso de la leche en la UE (millones de Tm) (Eurostat, 2015).

Los países miembros con mayor producción de leche ovina son Grecia, Rumania, España, Italia y Francia (Tabla 1), y casi toda la leche producida se utiliza para la fabricación de quesos, ya sea en la propia granja o en lecherías industriales (FAOSTAT, 2019).

Tabla 1. Evolución de la producción de leche ovina en miles de Tm en los principales países productores de la UE (FAOSTAT, 2019).

País	Años								
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Grecia	764.368	772.597	780.574	777.970	778.899	847.124	846.819	838.000	732.095
Rumanía	600.444	651.317	632.913	650.912	632.582	673.477	670.633	631.419	527.503
España	506.700	585.473	519.600	552.517	600.568	592.800	560.000	566.387	514.198
Italia	440.668	432.222	417.839	406.177	383.837	372.526	397.509	424.841	410.380
Francia	245.076	259.241	273.089	270.706	260.724	259.677	271.078	292.945	270.000
Portugal	85.194	81.034	77.089	74.203	72.399	71.209	71.632	72.304	71.066
Bulgaria	87.247	85.001	89.296	87.403	94.361	74.978	74.324	79.681	69.375
Chipre	19.091	18.011	26.818	25.212	21.710	22.134	26.628	28.302	29.840
Austria	9.210	9.461	10.572	10.636	10.982	11.223	10.574	10.794	11.982
Eslovaquia	9.215	9.453	9.293	9.900	9.923	10.102	11.316	10.689	11.379
Croacia	7.200	6.137	11.200	5.732	9.200	6.100	6.300	8.300	9.100
R. Checa	2.600	2.483	2.573	2.660	2.657	2.693	2.738	2.645	2.637
Malta	1.819	1.733	1.713	1.703	1.608	1.546	1.622	1.672	1.661
Hungría	1.415	1.817	1.639	1.733	1.749	1.690	1.744	1.655	1.149
Polonia	515	577	443	484	449	360	389	473	552
Eslovenia	534	541	612	473	397	504	467	447	498
<b>Total</b>	<b>2.783.305</b>	<b>2.919.108</b>	<b>2.857.274</b>	<b>2.880.433</b>	<b>2.884.058</b>	<b>2.950.157</b>	<b>2.955.788</b>	<b>2.972.570</b>	<b>2.665.432</b>

Un análisis más minucioso pone de manifiesto las diferencias entre sistemas para la producción de leche ovina en la UE, existiendo sistemas tradicionales o de pastoreo, semi-extensivos, semi-intensivos y sistemas intensivos (que varían en intensidad según regiones). Los sistemas semi-extensivos suelen ser la única opción para el manejo de ovinos lecheros en los países menos favorecidos del área mediterránea. Francia es un ejemplo claro de organización de sistemas semi-extensivos e intensivos, que están bien constituidos y cuentan con asesoría técnica adecuada. Además, existen sistemas familiares para la producción de quesos en Córcega (granjas de 100 ovejas/granja y rendimientos de 170 l/oveja/año). Por otro lado, están los sistemas de producción intensiva (500 ovejas/granja y rendimientos de 300 l/oveja/año) para la elaboración de productos tipificados y de alto valor. En Grecia encontramos desde sistemas de pastoreo dominados por el uso de razas autóctonas hasta sistemas intensivos con razas autóctonas y foráneas de alto rendimiento, cuya producción puede ser de 106 kg/oveja/año. Rumanía posee sistemas extensivos y poco especializados con rendimientos de 83 kg/oveja/año. España cuenta con sistemas que van desde los familiares destinados a la producción quesera (100 ovejas), hasta los sistemas de gran producción de leche (>1.000 ovejas). En Italia se encuentran también desde sistemas muy extensivos (pastoriles de montaña) con una carga animal de 2 a 3 ovejas/ha, semi-intensivos pastoreo en pastizales mejorados con aporte de un concentrado energético a razón de 30

kg/oveja/año, lo que permite una carga animal de 4–8 ovejas/ha, y por último intensivos, que poseen una carga animal de 15–20 ovejas/ha gracias a la presencia de praderas artificiales anuales y permanentes junto al aporte de un concentrado energético que oscila entre 50–90 kg/oveja/año (Elvira, 2015). Es frecuente encontrar en este último sistema instalaciones de ordeño mecánico y apriscos.

#### 2.2.1.1 Situación del ganado ovino en España

España a nivel mundial, es el sexto productor de leche de oveja, aporta el 4,9% de la producción (Figura 13) y ocupa el puesto 16 en censo ovino (16 millones). El 18,8% de esta población, según datos de la FAO, se destina a la producción de leche y el 81,2% se emplea en producción de carne. Además, toda esta población ovina se distribuye en ganaderías con diferentes sistemas de manejo (FAOSTAT, 2019). En cuanto al número de ganaderías, en los años precedentes se ha venido produciendo un notable descenso de éstas, pasando de 122.694 ganaderías registradas en el año 2007 a 114.652 registradas en el año 2017. Sin embargo, los últimos datos del año 2018 publicados por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) reflejan la existencia de un total de 114.826 granjas de ovino en España, con un censo total de 16.747 millones de cabezas, lo que supone una media de 145 animales por granja y, que apuntaría a una recuperación de las ganaderías y del censo ovino en nuestro país (Tabla 2) (MAGRAMA, 2018a).

El 79% de estas granjas contabilizadas en el 2018 (90.764) se destina a la producción de carne, el 6,0% (6.918) a la producción de leche y el resto son ganaderías de cebo (1,1%; 1.320). Un 8,8% (10.067) se dedica a la producción mixta y el 5,0% (5.757) a otro tipo de producción (SITRAN, 2019).

## Antecedentes bibliográficos

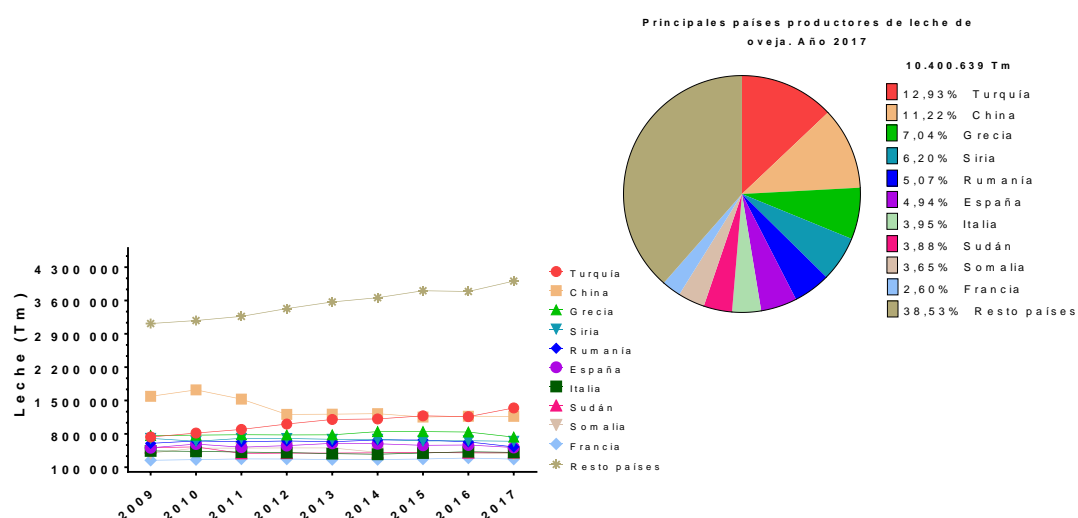


Figura 13. Evolución de la producción de leche ovina en miles de Tm de los principales países productores del mundo (FAOSTAT, 2019).

Las cinco comunidades autónomas con más censo de esta especie englobando en conjunto el 78,4% del mismo son Extremadura (22%), Castilla y León (18,2%), Castilla La Mancha (15,8%), Andalucía (14,3%) y Aragón (10,3%) (Figura 14).

Tabla 2. Evolución del número de granjas de ganado ovino por clasificación zootécnica en España (SITRAN, 2019).

Año	Cebo/ cebadero	Reproducción/ producción/leche	Reproducción mixta	Reproducción/ producción/carne	Otras clasificaciones	Total	Dif % año a año
2007	2.796	9.327	15.281	95.290	0	122.694	
2008	2.691	9.725	14.834	93.928	0	121.178	-1,2
2009	2.173	11.348	11.815	89.643	0	114.979	-5,1
2010	2.052	10.931	10.986	86.776	0	110.745	-3,7
2011	1.942	10.510	10.300	85.002	0	107.754	-2,7
2012	1.855	8.246	9.088	87.928	10	107.127	-0,6
2013	1.558	8.495	8.965	88.045	4.724	111.787	4,3
2014	1.531	8.483	10.015	89.524	5.349	114.902	2,8
2015	1.495	7.901	10.528	91.091	5.304	116.319	1,2
2016	1.456	7.147	10.725	91.615	5.353	116.296	-0,02
2017	1.330	6.938	10.119	90.670	5.595	114.652	-1,41
2018	1.320	6.918	10.067	90.764	5.757	114.826	0,15

Según Buxadé (1996) el sector ganadero tiene un importante papel en la vertebración del territorio aprovechando los recursos naturales disponibles y



jugando un papel esencial en la cohesión del tejido rural y el uso sostenible de hábitats.

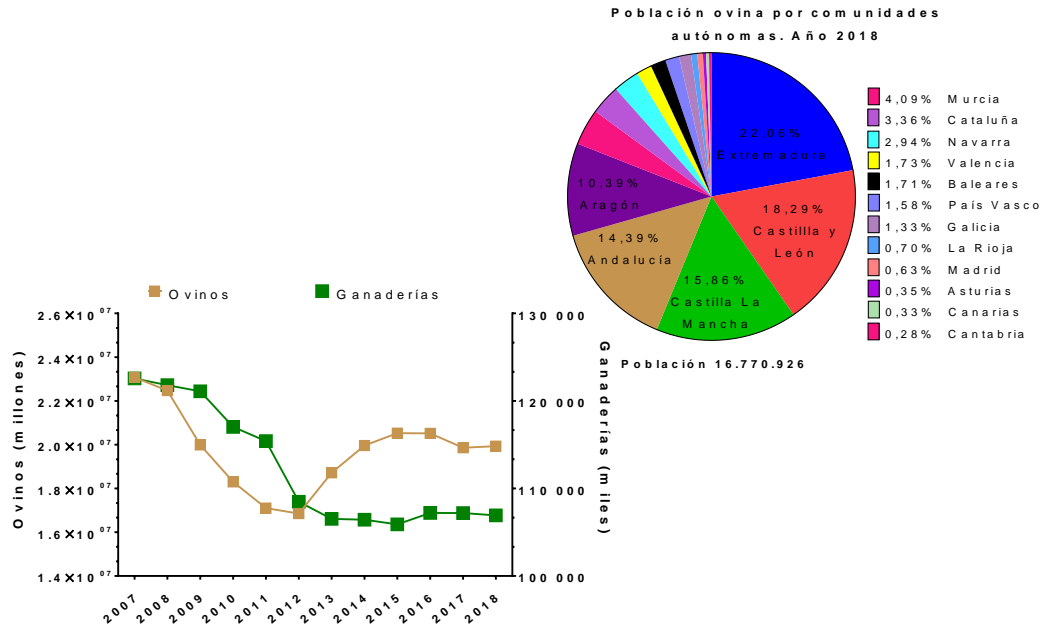


Figura 14. Evolución del censo y ganaderías ovinas en España. Distribución de la población por comunidades autónomas (SITRAN, 2019).

En la actualidad, España ocupa el sexto lugar a nivel mundial dentro de los países con mayor producción de leche de oveja y es el tercer productor de la UE, con un total de 514.000 Tm de leche. Según Rivas Rangel (2010), la producción de leche de oveja en España tiene una sólida base histórica, social y económica que se fundamenta en el uso de sistemas tradicionales, en la utilización de razas autóctonas de aptitud mixta y en el aprovechamiento de pastos naturales y residuos de cosechas; siendo la mayoría de estas ganaderías de tipo familiar. Las principales comunidades autónomas donde se distribuye la mayor parte de ganaderías de leche de oveja son Castilla y León, Andalucía, Castilla La Mancha, País Vasco y Navarra (Figura 15). En cuanto a la producción, las regiones más productoras durante 2016 fueron Castilla y León (53,7%), Castilla La Mancha (33%), Navarra (2,84%), Madrid (2,73%), Extremadura (1,93%), Andalucía (1,9%) y el País Vasco (1,73%).

**Distribución por comunidades autónomas  
de las ganaderías ovinas destinadas a la  
producción de leche. Año 2018**

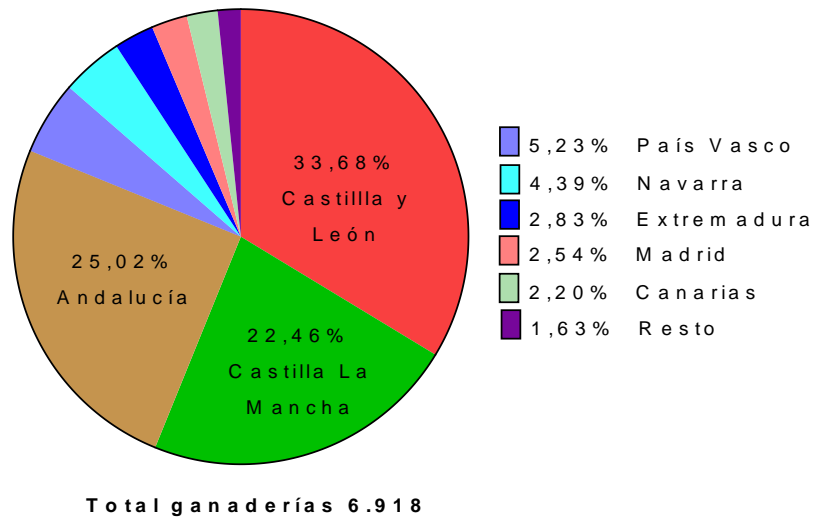


Figura 15. Granjas de ganado ovino destinadas a la producción de leche distribuido por comunidades autónomas (SITRAN, 2019).

Según el último censo ovino, realizado en 2017, existen 2,27 millones de ovejas lecheras repartidas en ganaderías de tamaño medio. A pesar de que la población ovina lechera ha decrecido, la producción total ha ido en aumento (Figura 16). Esto se puede deber a que los sistemas están en constante transformación y evolución y van incrementando la productividad individual media por oveja (Rodríguez Ruiz, 2013), y a la profesionalización y especialización productiva de las mismas. Este aumento de producción se ha explicado también como respuesta al mayor precio de productos como los quesos tipo mezcla, de gran aceptación en el mercado interno (Rivas Rangel, 2010). Este incremento de la demanda ha tenido como consecuencia un aumento en el precio de la leche de oveja y considerables mejoras en la modernización de las estructuras productivas de la granja en determinadas zonas, así como la introducción de razas foráneas especializadas en la producción de leche como assaf, lacaune, etc., (Rodríguez Ruiz, 2013). Además, la introducción de estas razas se ha acompañado con la implementación de sistemas de producción más intensivos (Ugarte *et al.* 2001).

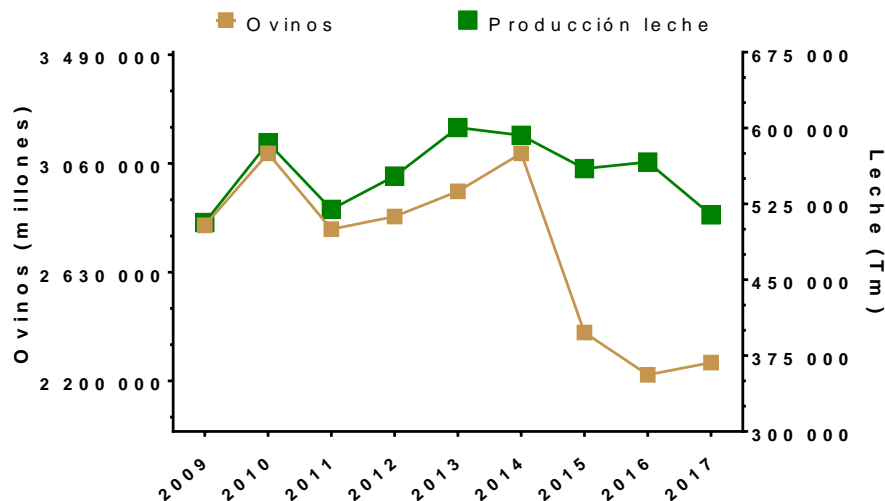


Figura 16. Evolución del censo y producción de leche de ovino en España (FAOSTAT, 2019).

Si tomamos como referencia la producción individual media de leche de oveja en España, específicamente en Castilla y León, podemos observar una evolución ascendente, lo que se ha producido un incremento paulatino de la producción individual, pasando de 66,4 kg/oveja/año en 1987 a 180,1 kg/oveja/año en 2010; con un crecimiento medio anual de 4,9 kg/oveja (Figura 17). Esta mayor productividad es debida quizás, a un aumento de la intensificación de las ganaderías.

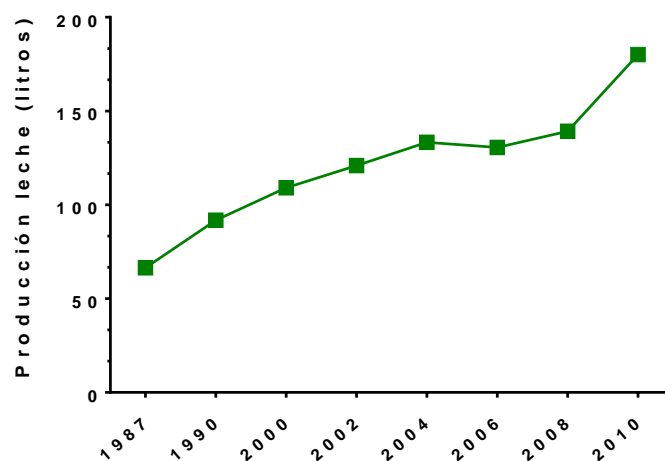


Figura 17. Evolución de la producción de leche de oveja en ordeño en Castilla y León (Adaptado de (Rodríguez Ruiz, 2013)).

Por otro lado el incremento de la producción de leche de oveja acontecido en los últimos años se ha relacionado con varias causas, según señalan otros autores como Caja y Rancourt (2002); entre ellas:

- La demanda creciente de productos de leche de oveja (principalmente quesos, cuajadas y yogures) con el consecuente incremento del precio de la leche, especialmente en las regiones con Denominación de Origen Protegida (D.O.P).
- La crisis del ovino de carne, con largos periodos de precios de cordero muy reducidos, junto con la limitación de las superficies de pastoreo.
- Las medidas europeas anteriores de regulación de la producción de la leche de vaca (no la de ovino) que ha podido llevar a la reconversión de ganaderos en ciertas regiones lechera.
- La disponibilidad de reproductores de alto potencial productivo a precios asequibles; principalmente corderas de raza lacaune, y la difusión de las razas awassi y assaf.
- La generalización del ordeño mecánico.
- El desarrollo de sistemas intensivos de producción y alimentación, con las consecuentes mejoras laborales y económicas.

Prácticamente, toda la producción de leche de oveja se procesa para la elaboración de quesos, algunos de éstos, protegidos por el régimen de D.O.P a nivel artesanal o semi-industrial y comercializados y consumidos en zonas muy limitadas (Martínez *et al.* 2011). Estos factores posicionan a España como el segundo productor de queso de la UE. Así pues, de la producción de 2017 (514.189 Tm) el 99% se destinó a la industria láctea para la elaboración de quesos puros y quesos de mezcla, mientras que 1% restante fue utilizado para la elaboración de quesos artesanales y de consumo directo (FEGA, 2019) (Figura 18).

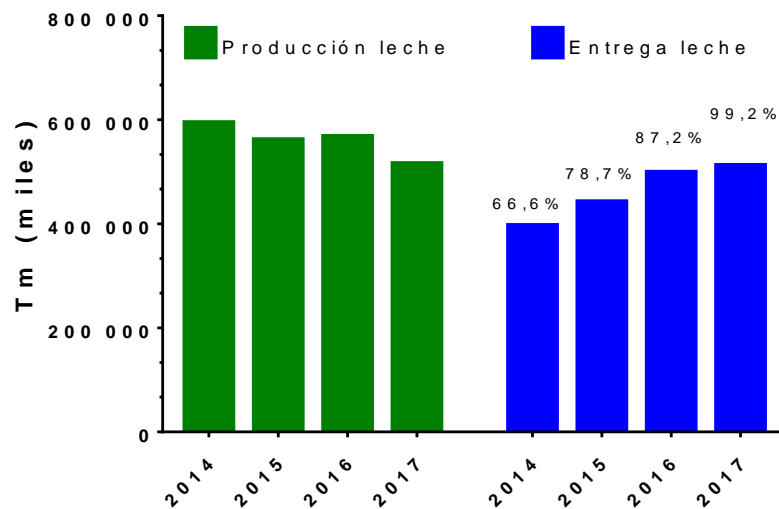


Figura 18. Evolución anual de las entregas de la producción de leche de oveja a la industria (FAOSTAT, 2019; FEAGA, 2019).

Los quesos producidos bajo el régimen de D.O.P emplean 78 millones de l (MAGRAMA, 2018a). Dentro de las ganaderías que entregan su producción a la industria láctea, existen dos grupos muy diferenciados. Por un lado, granjas con sistema de manejo tradicional y razas autóctonas manejadas bajo un sistema semi-intensivo para la producción de corderos y de quesos muy apreciados en el mercado nacional e internacional (Caja y Rancourt, 2002). Estos productos tradicionales son, en la mayoría de los casos, vendidos bajo etiquetas de D.O.P (quesos) o de indicación geográfica protegida (corderos). Por otro lado, están las granjas con sistemas de producción intensificados con razas foráneas de grandes producciones.

#### 2.2.1.2 Sistemas de producción ovina en España

Los sistemas de producción de leche en España tienen una sólida base histórica basado por la utilización de razas autóctonas de aptitud mixta, aprovechando pastos y residuos de cosecha. Estos sistemas se encuentran distribuidos en la meseta seca (Castilla y León y Castilla La Mancha) y también en el País Vasco y Navarra. En la Meseta se diferencian dos zonas: la submeseta norte (tierras agrícolas del Duero, siendo las razas predominantes la Churra y la Castellana), con producción de lechazos y una regular producción de leche tras el destete de

los mismos, y la submeseta sur (zona de la Mancha) con la raza Manchega. Ambos sistemas se basan en el aprovechamiento de los pastos de otoño a primavera y en los residuos de cosechas durante el verano (Rodríguez Ruiz, 2013).

En el País Vasco y Navarra, los sistemas se basan en la utilización de la raza Lacha que aprovecha los prados perennes combinado con los pastos de valle en otoño y primavera y los pastos de montaña en verano.

Estos sistemas han tenido que ir evolucionando a lo largo del tiempo, especialmente los de la meseta, al intensificarse la agricultura en estas zonas y sufrir despoblación. Es así que, en la actualidad, en base al constante crecimiento de la población urbana y de la demanda de alimentos, la mayoría de las ganaderías de leche ha ido evolucionando hacia la intensificación (Rodríguez Ruiz, 2013).

Bajo este escenario, los sistemas tradicionales de producción ovina de leche se han ido reconvirtiendo a sistemas más intensivos y han ido reemplazando las razas autóctonas por razas foráneas más especializadas (Mantecón *et al.* 2009). Esto ha ocurrido principalmente en zonas de Castilla y León sustituyéndose las razas churra y castellana por awassi y assaf con unas producciones lecheras altas superiores a 450 l/oveja/año (Mantecón *et al.* 2009; Ugarte *et al.* 2001). En Castilla La Mancha se ha sustituido a la manchega y se ha introducido la raza lacaune francesa en granjas que no están dentro de la D.O.P (Mantecón *et al.* 2009;Caja y Rancourt, 2002). En Andalucía también existen núcleos importantes de raza lacaune en convivencia con razas locales (FEAGAS, 2019). Otro factor que ha favorecido la intensificación de las granjas es la estacionalidad de la producción semi-extensiva, con máximas producciones en primavera (abril-junio) y mínimas en otoño-invierno, fenómeno no deseado por la industria a la que le interesa una producción uniforme durante todo el año (Rodríguez Ruiz, 2013). Esta estacionalidad penaliza principalmente a las granjas que no forman parte de las D.O.P y que no cuentan con un valor añadido de la leche producida ni con normas determinadas, asociadas a las mismas (Ugarte *et al.* 2001). Por

lo tanto, para este tipo de granjas la intensificación ha supuesto una forma de posibilitar la sostenibilidad económica a largo plazo de la empresa. Esta intensificación ha permitido, además:

- Incremento y mejora de la alimentación suplementaria
- Incremento del periodo de ordeño y de la producción de leche
- Mejor control de la reproducción con planificación de partos
- Ordeño mecánico
- Lactancia artificial del cordero
- Incremento de las inversiones en la ganadería

La base racial ha evolucionado paralelamente a los sistemas. Dado que las razas autóctonas, a pesar de estar bien adaptadas a las condiciones ambientales, presentan una producción lechera reducida y también escasa adaptación al ordeño mecánico. Como hemos comentado anteriormente, se han introducido razas foráneas de alta producción, siendo las razas awassi, assaf y lacaune las más populares (FEAGAS, 2019; Ugarte *et al.* 2001). Según el último censo ovino de 2017, en España existen alrededor de 1.1 millones de reproductoras de razas autóctonas (fundamentalmente churra, pero también castellana, manchega, latxa), mientras que la mayor parte del censo ovino lechero (750.000) son de razas foráneas como assaf, awassi, lacaune y sus cruces (MAGRAMA, 2018a; Hernández Díaz, 2015).

#### 2.2.2 Principales razas ovinas lecheras

Actualmente en España existen 43 razas oficialmente reconocidas productoras de carne, leche o lana (MAGRAMA, 2019). Tradicionalmente, las áreas de producción de ovejas lecheras en España han estado estrechamente relacionadas con razas autóctonas bien adaptadas a las condiciones ambientales, con rendimientos productivos bajos y criadas bajo un sistema de producción semi-extensivo o extensivo en sus zonas de origen. La introducción de razas foráneas ha sido una opción para los ganaderos que desean aumentar rápidamente el rendimiento de leche de su rebaño (Ugarte *et al.* 2001). Se calcula que, actualmente en España, el 45% del ovino de leche está

representado por razas foráneas y sus cruces (MAGRAMA, 2018a). Según datos publicados por el MAGRAMA (2018a), la distribución de la población ovina se localiza en la actualidad en cinco comunidades autónomas: Extremadura (22%), Castilla y León (18,%), Castilla La Mancha (15,8%), Andalucía (14,3%) y Aragón (10,3%), englobando el 81% del censo nacional. Haciendo un análisis provincial, las cinco provincias con mayor censo de ovino son Badajoz (14,59%), Cáceres (7,32%), Ciudad Real (5,39%), Zamora (4,38%) y Córdoba (4,28%), que constituyen un tercio del censo nacional (MAGRAMA, 2018b).

En lo que a las ovejas de orientación lechera se refiere, Castilla y León (43,3%), Castilla La Mancha (37,1%), Extremadura (6,6%), Navarra (3,9%) y País Vasco (3,5%) concentran el 94,4% de dichos animales (Figura 19). Si estudiamos la distribución provincial, el 55,37% de las ovejas de ordeño de España se encuentran en Ciudad Real (15,93%), Zamora (13,99%), Valladolid (10,25%), Toledo (8,29%) y León (6,91%) (MAGRAMA, 2018b).

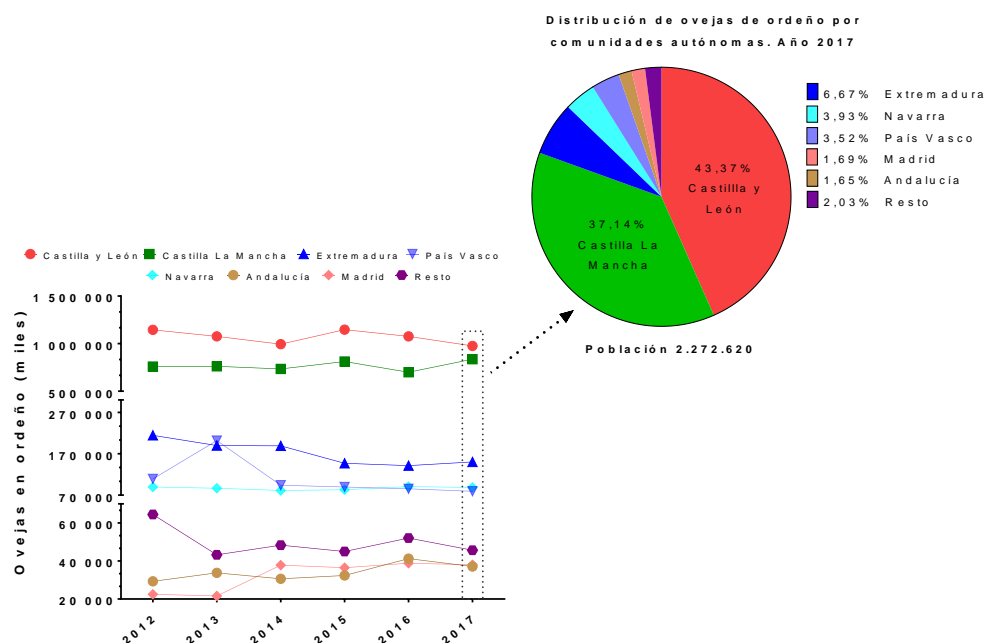


Figura 19. Evolución de la población de ovejas de ordeño por comunidades autónomas en los últimos años (MAGRAMA, 2018a).



### 2.2.2.1 Razas autóctonas de fomento

Los ovinos domésticos primitivos *Ovis aries vignei*, precursores de la raza merina, y *Ovis aries ligeriensis*, antecesor de las razas del tronco entrefino en el sur de Europa, fueron muy probablemente el origen de la raza merina de lana fina y de las razas de aptitud cárnica (raza aragonesa, segureña y ripollesa) o de doble aptitud carne-leche (manchega y castellana), que constituyen las principales y más numerosas poblaciones subespecíficas ovinas españolas, reconocidas como razas de fomento o en expansión, por el actual Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España (MAGRAMA, 2019). Dicho catálogo contiene la relación oficial y la clasificación de todas las razas y variedades ganaderas reconocidas en España como de interés económico, productivo o social, y que se recogen en el anexo I del Real Decreto 2129/2008. Este catálogo oficial reconoce un total de 41 razas ovinas y considera 31 de protección oficial. La raza chistavina, merina negra y la palmera se encuentran en categoría de situación crítica, contando cada una de esas razas con menos de 300 ejemplares.

Las razas autóctonas y locales rentabilizan bien los sistemas ecológicos ganaderos y aportan beneficios alimentarios adecuados (eficiencia nutritiva, metabólica y energética), sanitarios (resistencia biótica y capacidad de respuesta inmunológica), reproductoras (capacidad de cría maternal, longevidad, multipropósitos), medioambientales (aumentan la diversidad biológica, prevención de incendios en áreas naturales de alto valor biológico), nutricionales (alta calidad bromatológica de sus productos pecuarios) y socioculturales (sostienen la cultura rural del sistema tradicional). El fomento de estas razas autóctonas locales es su pureza racial, sin mestizajes con otras razas alóctonas. Su uso es fundamental para su correcta conservación y defensa de las denominaciones de origen, por lo que es indispensable potenciar su conservación con programas especiales, sobre todo en razas en período de extinción (Romero y Morales, 2006). Estas razas en régimen extensivo (pastoreo) contribuyen de forma muy eficaz a la conservación de los espacios naturales (dehesas, áreas adehesadas, de montaña y cereal rastrojeras), a

mejorar la productividad real y garantizar la fertilidad de los agrosistemas mediante la aportación de sus materias orgánicas en majadeo y redileo, mejorando sustancialmente la rentabilidad de las ganaderías. Estas razas, a pesar de haber sufrido una disminución importante en su población en los últimos años como consecuencia del desplazamiento por otras razas foráneas más productivas y adaptadas a la producción más intensiva, en la actualidad, se encuentran en aumento gracias a las políticas que fomentan y difunden su conservación (BOE, 2019).

Castellana. – lo más característico de esta raza es que es de ciclo ovárico continuo, por lo que puede quedar gestante en cualquier época del año. Sólo se ordeña una parte de los rebaños de esta raza, mientras que el resto se dedica en exclusiva a la producción de carne. El área de distribución es principalmente la Comunidad Autónoma de Castilla y León. Su producción total/lactación bajo control lechero es de 82,0 kg de leche en 100 d de lactación normalizada, con una composición de 6,21% en grasa y 5,29% en proteína en primíparas y de 110,75 kg de leche en 120 d de lactación normalizada, con una composición de 6,31% en grasa y 5,33% en proteína en múltiparas (UAGCYL, 2017). La leche obtenida se destina a la fabricación de quesos, como el queso de D.O.P “Zamorano” y el tipo castellano, ambos de elevada calidad. Este tipo de ganaderías comercializan además, el lechazo (Acero Adámez, 2009; Cambero Muñoz, 1999). En la actualidad, cuenta con 33.476 reproductoras y 1.116 reproductores distribuidos en 79 ganaderías (MAGRAMA, 2019).

Churra. – es una raza de doble aptitud con dos tipos de objetivos comerciales producción lechera y cordero lechal o lechazo o solamente cordero lechal (Buxadé, 1996). Es una raza especializada en la producción de leche y de gran facilidad de ordeño. No obstante, una parte de los rebaños de esta raza se ordeña, mientras que otros se dedican en exclusiva a la producción de corderos. Su producción total/lactación bajo control lechero es de 103,84 kg de leche en 100 d de lactación normalizada, con una composición de 6,04% en grasa y 5,22% en proteína en primíparas y de 129,48 kg de leche en 120 d de lactación normalizada, con una composición de 6,35% en grasa y 5,38% en proteína en

múltiparas (UAGCYL, 2017). No obstante, se han llegado a registrar producciones de hasta 370 kg de leche en 180 d. La leche obtenida en su totalidad se destina a quesos, bien de tipo local (Villalón, Burgos), bien bajo la D.O.P de queso zamorano. Existen otros tipos conocidos bajo el nombre de castellano, de alta calidad, similar al zamorano. La hembra de esta raza tiene una gran precocidad sexual, pudiendo presentar su primer parto a los diez meses de edad, aunque en general ocurre entre 14–16 meses, y presenta una prolificidad media de 1,38 (FEAGAS, 2019; MAGRAMA, 2019). Esta raza se encuentra distribuida principalmente con la submeseta norte del centro peninsular, y más concretamente con el Valle del Duero, coincidiendo en gran medida con la Comunidad Autónoma de Castilla y León. En la actualidad cuenta con 139.383 reproductoras y 2.100 reproductores distribuidos en 124 ganaderías (MAGRAMA, 2019).

Manchega. – raza de doble aptitud (carne y leche), debe su nombre a la región de La Mancha (MAGRAMA, 2019). Es una raza autóctona de fomento que produce queso manchego y cordero manchego. Presenta elevada rusticidad, instinto maternal y facilidad al parto. Asimismo, presenta una alta longevidad y vida útil con edad a la madurez sexual de alrededor de 11 meses y prolificidad de 1,5. Su media de producción láctea es de 180 l alcanzada a los 150 d. Sin embargo, en ocasiones han llegado a producir hasta 250 l/oveja/año. La calidad físico-química de la leche es elevada (es muy rica en grasa y proteína), obteniéndose un rendimiento quesero alto (4–4,5 l por kg de queso fresco). La leche de esta raza se destina a la elaboración del queso manchego amparado por D.O.P desde 1985 (MAGRAMA, 2019; FEAGAS, 2019). En la actualidad cuenta con 179.597 reproductoras y 3.422 reproductores distribuidos en 160 ganaderías (MAGRAMA, 2019).

Latxa. – ubicada principalmente por el noroeste de Navarra, Guipúzcoa, este de Vizcaya y noreste de Álava. La producción láctea obtenida se destina al queso Idiazábal y queso Roncal. Los sistemas de producción de esta raza se basan en el pastoreo y el aprovechamiento de recursos forrajeros al ser una raza que se adapta muy bien a zonas montañosas y de elevada pluviometría. El 88% de los

rebaños están en programas de control de rendimientos con ordeño automatizado. Bajo un buen manejo reproductivo se puede obtener un parto/año con una prolificidad media de 1,27. La edad reproductiva es alrededor de los 12 meses y el rendimiento lechero oscila en torno a 180 kg de leche alcanzados a los 140 d de lactación (MAGRAMA, 2019; FEAGAS, 2019). En la actualidad cuenta con 79.893 reproductoras y 3.544 reproductores distribuidos en 213 ganaderías (MAGRAMA, 2019).

Merina. – se caracteriza por la producción de carne, leche y lana; la producción láctea oscila en promedio de 275 kg (0,35 l diarios durante 40–60 d). Su producción se destina a quesos artesanales de alta calidad con D.O.P como la Torta del Casar, el Queso de la Serena y de los Pedroches (MAGRAMA, 2019; FEAGAS, 2019). Posiblemente, el lugar donde actualmente existe el mayor censo de esta raza es el sur y oeste peninsular. Es una raza que se explota en extensivo y cuyos corderos se estabulan en cebaderos unos días antes del destete. Además, en nuestro país, cada vez tiene mayor reconocimiento la carne con denominación específica como el cordero de Extremadura, “CORDEREX”, con carne de gran calidad procedente de oveja merina, cuyo cordero a los 65–90 días puede llegar a alcanzar un peso vivo de entre 20–25 kilos (Cambero Muñoz, 1999). En la actualidad cuenta con 125.628 reproductoras y 6.796 reproductores distribuidos en 239 ganaderías (MAGRAMA, 2019).

#### 2.2.2.2 Razas foráneas

En la actualidad en España las razas foráneas y sus cruces han ido sustituyendo a las autóctonas (mejores rendimientos de leche) llegando a representar alrededor del 45% del censo nacional; esta sustitución ha modificado el perfil productivo de las principales regiones Castilla y León; Castilla La Mancha y Madrid y Andalucía con granjas intensivas en estabulación permanente y una gran especialización de la mano de obra, el principal objetivo al que se quiere llegar con este sistema de manejo intensivo es lograr un sistema de producción de leche que sea semejante al del vacuno de leche (MAGRAMA, 2018a). Esta

superioridad productiva de estas razas no es compatible con sistemas tradicionales.

Awassi. – es una raza ovina de doble propósito (carne y leche) de alta rusticidad y baja prolificidad, perteneciente a las ovejas de cola grasa, originaria de Asia y utilizadas en Oriente Próximo bajo condiciones extensivas a semi-extensivas, donde, tanto la disposición de alimento, como el clima, actúan como factores limitantes de la producción. Los programas de selección de la raza llevados a cabo en Israel han dado lugar a la raza awassi mejorada, especializada en la producción lechera. La raza mejorada en Israel y bajo condiciones intensivas es una excelente productora de 400–500 l en 150 d (2,5 a 4,5 l/oveja/día). En rebaños selectos puede alcanzar entre 600 y 800 l (Gootwine, 2011). Se han llevado a cabo numerosos cruces con otras razas a fin de mejorar la rusticidad, la prolificidad, la producción láctea y la adaptación al ordeño mecánico. El mejor resultado se obtuvo al cruzar awassi con milchschaf, dando lugar a la raza assaf (Acero Adámez, 2009; Gootwine, 2011). La introducción de esta raza awassi al territorio español fue en 1971 y desde esa época se han realizado cruces con distintas razas autóctonas. Es una raza que se ha adaptado muy bien a las condiciones medioambientales de nuestro entorno y ha mostrado pocos problemas de salud (Ugarte *et al.* 2001). Los cruzamientos realizados de esta raza es a partir de un macho awassi con castellana, churra o manchega (híbrido F1), cuya producción supera los 400 l de media, llegando algunos ejemplares a 1.000 l, siendo este híbrido una oveja fuerte, rústica, de gran dureza y con temperamento tranquilo para el ordeño (Milán *et al.* 2011). La población de esta raza y sus cruces se estimaba entre 150.000 a 200.000 animales, sin embargo algunos aspectos como la baja prolificidad, la marcada estacionalidad reproductiva y la acumulación temprana de grasa de sus corderos, han condicionado la difusión de esta raza por todo el territorio, llegando a disminuir su población en 6.000 ovejas de raza pura y 80.000 ovejas cruzadas con assaf, churra o castellana (Milán *et al.* 2011; De La Fuente *et al.* 2006).

Assaf. – es originaria de Israel procedente del cruzamiento entre ovejas awassi y machos milchschaf con herencia genética en 5/8 de awassi y 3/8 de

milchschaft. El primer núcleo de esta raza fue introducido en España en 1977–1980, en la provincia de León (Ugarte *et al.* 2001). Hasta el año 1985 se fueron vendiendo sementales a otros ganaderos de la región. Por este procedimiento de cruzamiento por absorción de machos assaf con ovejas churra y castellana, se fue extendiendo y formándose la raza Assaf española en Castilla y León en primera instancia y luego en el resto del territorio (Milán *et al.* 2011). Actualmente, esta raza ha consolidado su presencia en siete comunidades autónomas, aunque Castilla y León continua siendo la región con más registro de animales el 90% de la población, llegando a 132.514 reproductoras y 6.567 reproductores puros registrados distribuidos en 127 granjas y de 600.000 a 900.000 ovejas cruzadas distribuidas en 1.060–1.300 granjas en 17 regiones de España y con un grado de pureza >80% (ASSAF.E, 2019; MAGRAMA, 2018a; De La Fuente *et al.* 2006). Esta raza esta oficialmente reconocida en España desde 2003 dentro del Catálogo de Razas Ovinas de España (BOE, 5–9–2003) como una raza de un país no europeo. Asimismo, años después el Ministerio de Agricultura reconoció oficialmente a la Asociación Nacional de Criadores de Ovejas Assaf de España (ASSAF.E). Es una raza de aptitud lechera, que se maneja fundamentalmente bajo un sistema intensivo. Presenta su primer parto a los  $14,6 \pm 2,4$  meses de edad, con una prolificidad media de 1,8 y tiene un parto/año, aunque con frecuencia pueden alcanzar tres partos en dos años (Pollott y Gootwine, 2004; FEAGAS, 2019).

En Castilla y León su producción total/lactación bajo control lechero es de 234,68 kg de leche en 100 d de lactación normalizada, con una composición de 5,44% en grasa y 4,65% en proteína en primíparas y de 331,68 l de leche en 120 d de lactación normalizada, con una composición de 5,69% en grasa y 4,75% en proteína en multíparas (UAGCYL, 2017).

#### 2.2.2.3 Lacaune: raza de interés para el presente trabajo

Lacaune. – originaria de Francia. Inicialmente utilizada para leche y corderos, en la actualidad presenta dos estirpes con distintas aptitudes: una destinada a la producción de carne y otra a la producción de leche. Cuenta con una población

de 1,29 millones de ovejas (20% de la cabaña ovina francesa), predominando en Francia (UPRA, 2010). En la década 1955–1965 las constantes innovaciones e iniciativas de investigación permitieron obtener los primeros resultados de índice de prole de algunos carneros de esta raza. En la siguiente década 1965–1975, se duplicó el tamaño del núcleo de selección (Barillet *et al.* 2016). Al final de la década de 1970 el núcleo de selección se dividió en dos entidades “El servicio de cría de la confederación general de Roquefort” (Millau, Francia) y el “Centro Frances de Inseminación Ovina” (OVITEST, Onet-le Château, Francia) (Baloche *et al.* 2014). UPRA Lacaune es el estamento que acuerda los esquemas de selección de los dos centros, utilizando el mismo índice para todos los animales. El resultado de todos estos años de continua selección ha sido una oveja con un potencial lechero alto, con alto contenido de sólidos. Así pues, su potencial productivo ha aumentado en estos últimos 20 años enormemente (150 a 300 l) (Figura 20), pasando a caracterizarse como ovejas de alto nivel productivo (Barillet *et al.* 2016). Es una raza que presenta ubres perfectamente adaptadas al ordeño (Barillet *et al.* 2001) aumentando mucho la tasa de ovejas ordeñadas/persona/hora (100 ovejas ordeñadas/persona/hora en los años 1970 a 400 ovejas ordeñadas/persona/hora en la actualidad) (Barillet *et al.* 2016).

En Francia, la denominada Cuenca del Roquefort contaba en 1999 con 800.000 ovejas Lacaune distribuidas en 2.517 ganaderías; que producían 178,3 millones de litros de leche anual (Barillet *et al.* 2001), lo que representaba el 76% de la producción total de leche de oveja en Francia (234 millones de l) (Barillet *et al.* 2001). En 2010 se estimó un efectivo de 1.100.000 con 800.000 de ellas lecheras y 300.000 de carne. Esta raza está presente en casi la mayor parte del territorio francés, pero es en Mediodía–Pirineos y Languedoc–Rosellón donde está más representada (Rayon de Roquefort). En el año 2010 se estimó 157.886 individuos inscritos en el libro genealógico y 661.359 sometidas a control lechero oficial. Estos animales se encuentran distribuidos en 2.300 ganaderías, de las que 400 están inscritas en el libro genealógico y 1.900 en control lechero. El tamaño medio de ganadería es de 348 animales y la producción media de 283 l estandarizada a 160 d de lactación (UPRA, 2010).

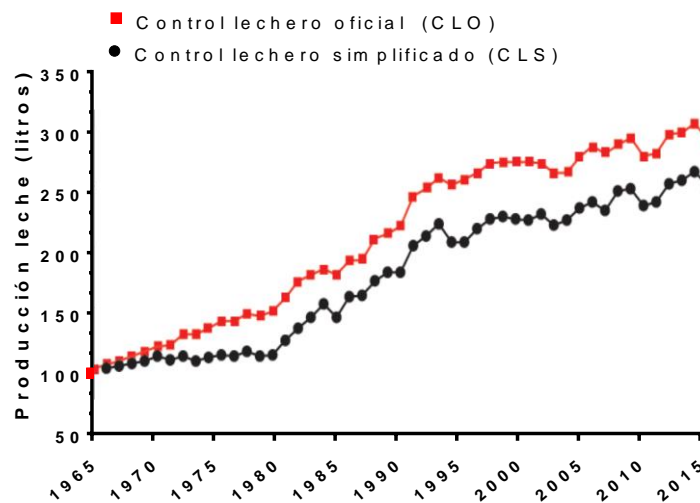


Figura 20. Evolución productiva de la raza Lacaune en Francia bajo control lechero oficial (CLO) y control lechero simplificado (CLS) que se realiza en la granja, durante la fase de inicio del esquema de selección (1965–1980) y luego bajo régimen de cruce desde el año 1980 (Adaptada de (Barillet *et al.* 2016).

La producción obtenida se destina en su totalidad para la elaboración del queso de Denominación de Origen Controlado (D.O.C.) “Roquefort” regulado bajo decreto (AGRP0001838D, 2001). Es un queso muy apreciado de elaboración tradicional. Esta D.O.C. es emblemática a nivel mundial en el sector de los quesos de calidad y sólo permite la leche procedente de ovejas de raza Lacaune manejadas de forma tradicional según su normativa (UPRA, 2010; Barillet *et al.* 2001). Este sistema tradicional incluye alimentación a base de forrajes y cereales procedentes de al menos de tres cuartas partes de la región geográfica protegida. La estabulación permanente o *hors sol* está prohibida, siendo obligatorio el pastoreo diario en el periodo en que haya disponibilidad de hierba y las condiciones climáticas lo permitan. El manejo reproductivo tradicional según el sistema D.O.C.; es desestacionalizado con un parto/oveja/año, el peso al nacer para las hembras es  $3,9 \pm 0,7$  y  $4,6 \pm 0,2$  kg para los machos, los partos se distribuyen entre octubre y diciembre en ovejas adultas, tras los cuales, los corderos deben ser amamantados por su madre durante 30 días, periodo en el cual la leche no es comercializada. El ordeño efectivo ocurre después del destete de los corderos (peso promedio 13–14 kg), y dura aproximadamente 6



a 8 meses (ordeño hasta junio o julio), y las ovejas se ordeñan dos veces al día, con una aproximado de 12 horas de diferencia (Marie *et al.* 2002 ; UPRA, 2010; Thomas *et al.* 2014). La madurez sexual de esta raza ocurre alrededor de los 7 a 9 meses con edad al primer parto entre 12–14 meses. Bajo este sistema las ovejas adultas y corderas pueden llegar a producir 306 l en 171,4 d y 237 l en 146,1 d, sin tener en cuenta la producción de leche durante el primer mes de lactación y la producción entre el cierre de las lecherías y el secado.

No obstante, esta raza también permite el manejo dentro de un sistema intensivo o semi-intensivo, y se caracteriza por una elevada mecanización del ordeño (aunque en este caso, el producto no entra en D.O.C.).

Desde el origen del programa de mejoramiento genético para esta raza, la selección se ha centrado principalmente en la cantidad de leche producida por oveja. Posteriormente, se han incluido otros parámetros de evaluación y selección: en 1985 se incorporó la composición de la leche (contenido de grasa y proteína); en 1995 la resistencia a Scrapie; en 1999 el contenido de células somáticas para mejorar la resistencia a mastitis y morfología de la ubre y en 2010 se incluyeron la primeras pruebas de selección genómica de los machos basadas en predicciones realizadas con Polimorfismo de Nucleótido Único o por sus siglas en inglés SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) que se realizan para evaluar a los carneros (UPRA, 2010).

Desde 1992, algunos países han ido importando oficialmente desde Francia la raza Lacaune. Entre estos países se señalan España, Portugal, Italia, Suiza, Austria, Hungría, Brasil, Venezuela, Túnez. Es una raza reconocida internacionalmente como una de las mejores razas ovinas lecheras. Sin embargo, la información productiva y reproductiva de esta raza en los diferentes países es escasa (Barillet *et al.* 2001). Solo existen pocos estudios disponibles que resalten las diferencias de esta raza (Regli, 1999; Such *et al.* 1998). Regli (1999), reportó la producción de esta raza en Suiza y en Canadá bajo condiciones de manejo diferentes. En España Such *et al.* (1998), llevaron a cabo estudios que comparaban la capacidad de ordeño entre la raza lacaune y

manchega. Más recientemente, existen datos publicados por nuestro grupo de trabajo (Hernández *et al.* 2011; Hernandez *et al.* 2012; Elvira *et al.* 2013a; Elvira *et al.* 2013b) y por otros investigadores (Gil *et al.* 2003), sobre la optimización de los parámetros productivos y reproductivos de la raza lacaune. Así pues, en estos trabajos se evalúa la edad al primer parto (Hernández *et al.* 2011), la duración del periodo seco óptimo (Hernandez *et al.* 2012), la descripción de la curva de lactación (Elvira *et al.* 2013a) y los factores que afectan la producción y a su curva de lactación (Elvira *et al.* 2013b). Estos estudios fueron realizados en la misma granja intensiva de Castilla y León. La Asociación Española de Criadores de Ovino Selecto de Raza Lacaune (AESLA) ha publicado los resultados obtenidos de 59 ganaderías de diferentes comunidades autónomas sometidas a control lechero oficial entre el 2009 y 2017 (UAGCYL, 2017) entre las que se incluye nuestra granja objeto de estudio, como se puede ver en detalle en la Tabla 3.

Tabla 3. Características productivas de la raza Lacaune bajo las condiciones productivas de distintos países.

País	Estudio	Producción (l)	Días en lactación	Días en ordeño
Francia	UPRA Lacaune (Barillet <i>et al.</i> 2001)	218-271 <sup>a</sup>	175-204	145-174
	UPRA Lacaune (UPRA, 2010)	306 <sup>a</sup>	202	172
	UPRA Lacaune (Institut De L'Elevage, 2016)	218-418 <sup>a</sup>	129-211	-----
Suiza	Asociación de Productores de ovino Suiza (Regli, 1999)	350-412	250-260	250-260
Canadá	(Regli, 1999)	330-392 <sup>a</sup>	262-283	220-241
España	AESLA (Disposición 13976 del BOE núm 198 de 2011)	283-359	160	160
	COVAP (InfoCarne, 2011)	350-378	150-180	150-180
	(Hernández <i>et al.</i> 2011)	448	238	238
	(UAGCYL, 2017) Multíparas	300,79 <sup>b</sup>	120	-----
	(UAGCYL, 2017) Primíparas	217,93 <sup>b</sup>	100	-----
	(UAGCYL, 2017) Multíparas	365,21	158,24	-----
	(UAGCYL, 2017) Primíparas	333,81	162,74	-----

<sup>a</sup> Leche ordeñada sin incluir amamantamiento del cordero

<sup>b</sup> Control lechero en lactación normalizada a 100 y 120 días

A pesar de que los primeros intentos de introducir esta raza a España se remontan a la década de 1960, el interés real de introducir esta raza aparece en 1980, fundamentalmente a través cruzamientos por absorción con machos

lacaune, se utilizó la inseminación artificial con semen refrigerado procedente de Francia sobre hembras de diversas razas autóctonas españolas. Las primeras importaciones de animales se realizaron a primeros de los años noventa, en las comunidades de Andalucía y Castilla. Posteriormente, grupos cooperativos y asociaciones se organizan para importar conjuntamente animales procurando garantías genéticas y sanitarias (Ovigén, 2018). El Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España la incluye en el Grupo de Razas de la Unión Europea (MAGRAMA, 2019). Se encuentra distribuida en todo el territorio nacional con los principales núcleos en Andalucía, Castilla La Mancha, Castilla y León, Aragón, Navarra, Extremadura, Valencia, Cataluña. Su población es de 90.000 reproductoras (Ovigén, 2018). No obstante, en algunas regiones (Castilla La Mancha y Extremadura) se encuentra en convivencia con razas autóctonas ligadas a determinadas marcas de calidad.

En Andalucía, en el Valle de Los Pedroches, el ovino lechero surgió a finales de la década de los noventa como alternativa a las dificultades del sector vacuno lechero. Esta iniciativa de algunos ganaderos fue tutelada e impulsada por la Cooperativa del Valle de los Pedroches (COVAP), que en la actualidad transforma toda esta leche bajo su propia marca. Las ganaderías de esta zona se basan en sistemas de producción intensivos o semi-intensivos con razas lecheras, tanto assaf como lacaune. Las granjas cuentan con instalaciones modernas y con una gestión de la alimentación y de la reproducción especializada, con utilización generalizada de mezclas completas en alimentación (*unifeed*) y de protocolos de sincronización hormonal para la programación de parideras (Sanchez Rodriguez, 2011; FEAGAS, 2019). Estas ganaderías obtienen producciones de leche superiores a los 350 l/oveja/año (Gil *et al.* 2003). En otras zonas de España existen también algunas ganaderías grandes, dispersas y aisladas, de ovino lechero de raza lacaune (Sanchez Rodriguez, 2011).

En general las ganaderías basadas en esta raza en España son grandes (850 oveja/granja), con ordeño mecánico y lactancia artificial de los corderos (MAGRAMA, 2019). Presenta su primer parto entre los 13–15 m de edad, 238

d/lactación y producciones medias de 448 l/oveja (Hernández *et al.* 2011), producciones mayores que las registradas en los sistemas típicos de esta raza en origen (de 306 l/oveja/lactación) (UPRA, 2010). En 2017, en Castilla y León su producción total/lactación bajo control lechero fue de 217,93 kg de leche en 100 d de lactación normalizada con una composición de 6,35% en grasa y 4,98% en proteína en primíparas y de 300,79 kg de leche en 120 d de lactación normalizada, con una composición de 6,39% en grasa y 5,19% en proteína en multíparas (UAGCYL, 2017). Su capacidad reproductiva individual observada bajo condiciones de manejo intensivo es de 1,3 partos/oveja/año con una prolificidad de 1,6 (Pesantez-Pacheco *et al.* 2018). No obstante, existe mucha variabilidad entre individuos de esta raza, lo que supone una clara necesidad de trabajar para homogenizar estas producciones y establecer un programa adecuado de mejora (FEAGAS, 2019).

### 2.3 Factores que afectan la productividad lechera ovina

En ganadería, los productores siempre se esfuerzan por elevar la eficiencia económica del sistema productivo. Para llegar a este objetivo, se deben tener en cuenta los factores que afectan dicha eficiencia, que son de muy diferente naturaleza (Hernández Díaz, 2015).

Para poder establecer una estrategia de mejora de la eficiencia global de los sistemas productivos debemos conocer los valores y oscilaciones de los índices productivos y reproductivos que evaluar los resultados en conjunto de la ganadería e individuales y que son esenciales a la hora de monitorizar la misma (Rodríguez Ruiz, 2013). Por otro lado, el conocimiento de los factores que afectan la productividad individual y global, son fundamentales para fijar y elegir las estrategias adecuadas que consigan mejorar los índices del rebaño.

Estos factores los podemos dividir, siguiendo la clasificación de Buxadé (1996) en, por un lado, intrínsecos o individuales y, por otro, extrínsecos o ligados al ambiente. Los intrínsecos, que dependen directamente del animal, son difíciles de modificar a corto plazo y deben realizarse mediante programas de mejora genética a medio y largo plazo.

A pesar de que las ovejas genéticamente se consideren las mejores productoras y tengan un potencial productivo máximo, existen otros factores que se asocian con distintos tipos de estrés (clima, manejo) parto, edad, estado de nutrición, época de parto, etapa de lactación, tamaño de la camada, sexo del cordero, condición corporal, tamaño y salud de la ubre, frecuencia de ordeño, fotoperiodo y duración del periodo seco que también pueden afectar la producción y composición de la leche (Finocchiario *et al.* 2005; Marai *et al.* 2007; Abecia y Palacios, 2018).

En el caso de estos factores extrínsecos o ligados al ambiente, podemos actuar de forma sencilla y más directa en muchos casos, a través de prácticas de manejo, obteniéndose mejoras a corto y medio plazo (Figura 21). Tanto los factores individuales como los ambientales interaccionan entre sí de diversas formas haciendo difíciles de separar sus distintas acciones.

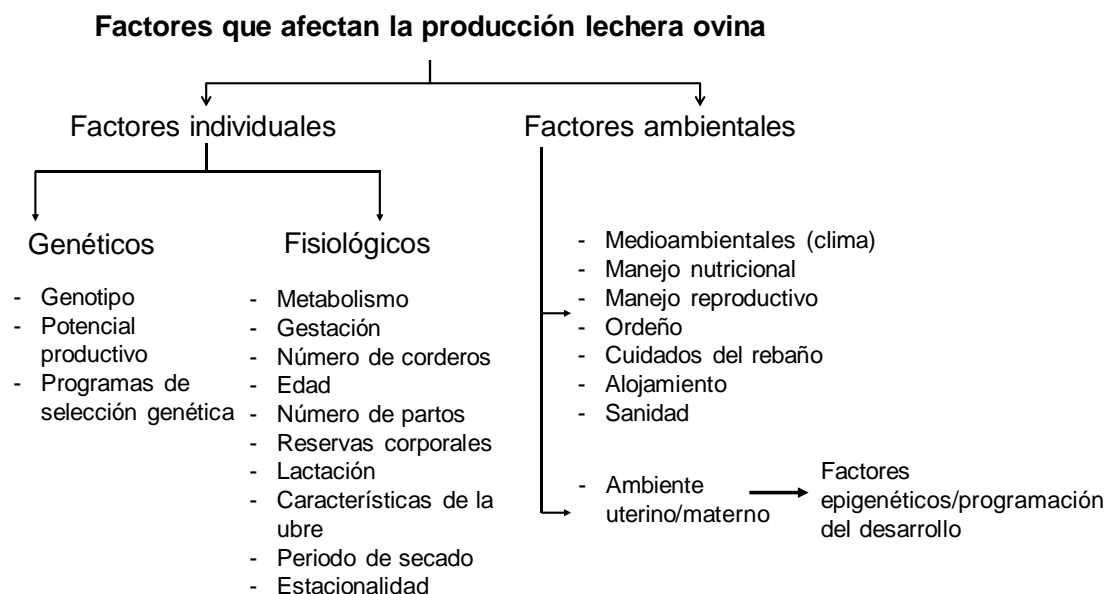


Figura 21. Factores que afectan la productividad lechera ovina (Adaptado de (Buxadé, 1996).

En este esquema que presentamos, dentro de los factores ambientales, debemos añadir los factores del ambiente uterino materno que afectan al desarrollo de los individuos durante su etapa fetal y que pueden tener una

repercusión importante en el sistema productivo. Por lo tanto, los factores del ambiente uterino ocupan un lugar relevante en el presente trabajo.

Hemos elegido el desarrollo algo más en extenso de los factores en los que nos centramos en el presente trabajo y estos son:

#### Factores ambientales

- Medioambiente (clima)
- Manejo nutricional
- Manejo reproductivo

#### Factores Individuales

- Genéticos
- Fisiológicos

#### Factores del ambiente uterino

- Programación del desarrollo

#### 2.3.1 Factores ambientales

##### 2.3.1.1 Factores medioambientales

En un concepto más general nos centraremos en las condiciones climáticas al considerar los factores medioambientales. La heterogeneidad y la imprevisibilidad del clima son características que pueden tener un efecto en varios aspectos de la producción ovina, especialmente en la producción de leche, pero que pueden ser atenuadas mediante un adecuado manejo, especialmente en sistemas intensivos o semi-intensivos. Los estudios de Curtis (1983), señalan valores de temperatura de 5 y 25°C como límites inferior y superior para el estrés térmico de la especie ovina. Sin embargo, estos límites pueden variar dependiendo de la raza, orientación productiva (carne vs. leche) y nivel de producción. En términos generales podemos decir que las ovejas son más tolerantes a los climas extremos (frio y/o calor) que otros animales. Por

ejemplo Alexander (1974), calculó a partir de los datos de Bennett (1972) que las ovejas adultas cuando estaban secas y con 10 cm de vellón podrían soportar temperaturas ambientales muy bajas ( $-20^{\circ}\text{C}$ ). Sin embargo, la tolerancia al frío puede variar dependiendo de la capacidad del animal para aumentar la producción de calor y de los aspectos del entorno que afectan la temperatura ambiental efectiva (TAE). Por otro lado, la tolerancia al calor es menos definida que la tolerancia al frío para las ovejas (Sevi y Caroprese, 2012). Se ha demostrado que las ovejas pueden sobrevivir a periodos cortos de temperaturas altas ( $40\text{--}60^{\circ}\text{C}$ ) (Mount, 1979); sin embargo, los desempeños productivo y reproductivo no han sido evaluados bajo estas condiciones medioambientales. En zonas de altas temperaturas, los factores que afectan la disipación de calor o la velocidad de evaporación son el viento y la humedad, y, por lo tanto, son de mayor importancia para determinar la resistencia de la oveja al calor. Además de la temperatura como tal, existen factores que se asocian a ésta, como el índice de humedad relativa (*Relative Humidity* RH, por sus siglas en inglés) y el índice de temperatura–humedad (*Temperature–Humidity Index* THI, por sus siglas en inglés) que también tiene su efecto negativo sobre la producción de leche (Gowane *et al.* 2017).

La mayoría de estudios se han centrado en las causas por las que el estrés por calor afecta a la producción de leche, mientras que los estudios sobre los efectos del estrés por frío son más escasos (Ramón *et al.* 2016). Peana *et al.* (2007a) en ovejas sardas, encontraron que la producción de leche disminuye en un 25% ( $0,30\text{kg/d/oveja}$ ) cuando las temperaturas bajan de  $0$  a  $3^{\circ}\text{C}$ . Asimismo, Ramón *et al.* (2016), reportaron que la pérdida de producción de leche oscila entre 7 y 16 g/d/oveja por cada  $^{\circ}\text{C}$  en ovejas de raza manchega cuando la temperatura baja de  $-1,0^{\circ}\text{C}$ .

Varios estudios han descrito los efectos del estrés por calor en la región Mediterránea, que se caracteriza en general por veranos cálidos a calurosos e inviernos suaves a fríos y húmedos, con características específicas que dependen de cada región (Ramón *et al.* 2016). En ovejas sardas, la producción de leche disminuye en un 15% ( $0,30\text{kg/d/oveja}$ ) cuando las temperaturas

máximas son superiores a 21–24°C y aproximadamente un 20% (0,39 kg/d/oveja) cuando las temperaturas mínimas cambian de 9–12°C a 18–21°C. Además, en este mismo estudio, se demostró que la producción de leche disminuye en un 20% (0,38 kg/d/oveja) a medida que el índice THI pasa de 60–65 a 72–75 (Peana *et al.* 2007b). En un estudio de Finocchiaro *et al.* (2005) encontraron que un índice de temperatura–humedad  $\geq 23$  disminuye la producción de leche en un 4,2% (62,8 g por cada unidad THI) en ovejas lecheras de la región del Valle de Belice, Sicilia. En este mismo sentido se ha descrito que la producción de leche en ovejas comisana en lactación tardía ( $168,5 \pm 2,6$  d de lactación) disminuye en un 20% (alrededor de 70g/d), sólo cuando la temperatura excede los 35°C (Sevi *et al.* 2001). En otro estudio, se señala una disminución de la producción de leche de 1 a 5 g/d/oveja, cuando la temperatura excede los 30°C o con un índice THI mayor a 22 (Ramón *et al.* 2016).

Las altas temperaturas tienen además un efecto retardado sobre la producción de leche y, así, las condiciones climáticas en un periodo de 3 días antes del día del registro de la producción de leche ocasionan pérdidas estimadas ligeramente mayores que las medidas en el día del registro o en cualquiera de los 4 días anteriores (Finocchiaro *et al.* 2005).

La composición química de la leche depende de factores propios del animal, pero también de la alimentación y del ambiente. En este sentido, el ambiente puede afectar en mayor o en menor grado a la composición de ésta. La radiación solar tiene efecto sobre el contenido de proteína y grasa, y afecta la firmeza del coagulo de la leche (Sevi *et al.* 2001). El contenido de proteína y grasa siempre tiene una correlación negativa con los altos índices de THI (Gowane *et al.* 2017). Así, las ovejas sometidas a altas temperaturas experimentan elevación en el número de neutrófilos y un aumento de la actividad de las enzimas lipolíticas y proteolíticas en la leche (Sevi y Caroprese, 2012). Asimismo, la exposición directa a la radiación solar reduce los nivel de ácidos grasos insaturados e incrementar el contenido de los saturados como: láurico, mirístico y palmítico que tiene un efecto hipercolesteronemico sobre la salud humana (Gowane *et al.* 2017). El exceso de calor afectan las propiedades de coagulación de la leche



(Gowane *et al.* 2017); esto podría ser debido a que las ovejas en un ambiente muy caluroso, disminuyen el consumo de alimento, lo que ocasiona una alta movilización de reservas corporales (especialmente tejido adiposo y proteínas) para soportar la gluconeogénesis mamaria (Amaral-Phillips *et al.* 1993) ocasionando un incremento del pH de la leche por una acumulación alta de CO<sup>2</sup> que es disipado a través del jadeo del animal (Habeeb *et al.* 1997).

#### 2.3.1.2 Manejo nutricional

El nivel productivo lechero de la oveja rara vez alcanza el máximo determinado por su potencial genético. Esto se debe a menudo a una nutrición inadecuada que no satisface los requerimientos de la oveja durante las diferentes etapas del ciclo productivo. Por lo general, una mala nutrición, además de tener un efecto directo sobre la producción, puede afectar además a otros aspectos como la fertilidad, la tasa de crecimiento y la salud (Peñagaricano *et al.* 2014). En la mayoría de las situaciones, la energía y proteína son los componentes nutricionales claves que limitan la producción ovina de leche, mientras que las vitaminas y minerales pueden ser limitantes en la producción de corderos (Paulina y Bencini, 2004).

El efecto del plano nutricional sobre el desarrollo y crecimiento de la glándula mamaria se ha estudiado durante varias etapas del desarrollo de la oveja: durante la etapa de desarrollo fetal (van der Linden *et al.* 2009), prepuberal (McFadden *et al.* 1990) y durante la gestación y lactación en la etapa adulta (Charismiadou *et al.* 2000; Bizelis *et al.* 2000).

La producción de leche está limitada por el número de células secretoras de la glándula mamaria (McFadden *et al.* 1990). La nutrición materna durante la gestación, lo que se encuadra ya dentro de los factores epigenéticos, es muy relevante en el desarrollo de la glándula mamaria (van der Linden *et al.* 2009). En este estudio se alimentaron ovejas gestantes livianas y pesadas con una misma dieta bajo dos regímenes, *ad libitum* y restringido (para cubrir necesidades de mantenimiento). Los fetos de las ovejas que recibieron dieta de mantenimiento tuvieron mayor peso del tejido mamario que las ovejas con dieta

*ad libitum*. Asimismo, los fetos de las ovejas pesadas tuvieron mayor área del conducto mamario que las ovejas livianas. La descendencia hembra de estas ovejas se monitorizó durante su primera lactación: las nacidas de ovejas con dieta restringida producían más leche al inicio de la lactación que las de ovejas con una dieta *ad libitum*. Así mismo, la descendencia de las ovejas pesadas mostró mayores rendimientos de leche que la descendencia de ovejas livianas. Una posible explicación a estos hallazgos es que hay más de un factor involucrado en el desarrollo del tejido mamario durante la vida fetal. Después del nacimiento, la glándula mamaria depende de una sucesión de fases isométricas y alométricas de crecimiento para alcanzar su desarrollo casi máximo al inicio de la primera lactación, haciendo difícil identificar los factores que la afectan (Tucker, 1987; Akers, 2016).

Ya durante la vida postnatal, sabemos que, en rumiantes el desarrollo del tejido mamario es crítico durante los primeros 2–3 meses de edad. La sobrealimentación durante el desarrollo temprano inhibe el crecimiento del parénquima mamario y reduce la producción de leche en ovino (Johnsson *et al.* 1985). En este sentido McFadden *et al.* (1990) comprobaron el efecto de la nutrición, el tratamiento con hormona de crecimiento y la adición de grasa poliinsaturada durante el desarrollo mamario prepuberal. Estos autores alimentaron con una misma ración de alto contenido de energía (ración para ganancia diaria de peso de 240 g/d) a corderas prepúberes desde la semana 7 hasta la semana 22 de edad, en la que fueron sacrificadas. Incluyeron cuatro grupos (Grupo *ad libitum*; Grupo *ad libitum* + de 30% de grasa poliinsaturada; Grupo *ad libitum* + hormona de crecimiento y Grupo restringido a 50% de la ración). Las corderas que recibieron la suplementación con grasa poliinsaturada tenían mayor peso de parénquima mamario, mayor contenido de parénquima mamario libre de grasa y menor contenido de ADN que el grupo que recibió la inyección de hormona de crecimiento. La conclusión de este trabajo es que el desarrollo del parénquima mamario se ve estimulado por la grasa poliinsaturada (a través de un aumento del contenido de ácidos grasos insaturados en el parénquima mamario), pero no por el plano nutricional, una posible respuesta a esto es que la nutrición o la administración de hormona de crecimiento no

pueden alterar la composición de los ácidos grasos (insaturados) o quizás se deba a un engorde excesivo durante el periodo prepuberal que podría limitar el crecimiento del parénquima mamario.

Los requerimientos de nutrientes de la oveja lechera durante la gestación temprana son menores en comparación con el último tercio de la gestación, ya que deben ser distribuidos para el soporte del crecimiento fetal y la acumulación de reservas corporales de la madre (tejido adiposo) para que ésta pueda hacer frente al inicio de una nueva lactación. Además, la elevada producción de esteroides ováricos y feto-placentarios durante la gestación, unidos al lactógeno placentario ovino, podrían determinar un mayor desarrollo de la estructura lóbulo-alveolar del tejido mamario y, por lo tanto, un mayor potencial productor (Byatt *et al.* 1992).

Sin embargo, Charismiadou *et al.* (2000) demostraron que el nivel de energía sí tenía un efecto sobre el desarrollo de la glándula mamaria. Estos autores compararon un nivel alto (110% del requerimiento energético) y bajo (90% del requerimiento energético). Las ovejas que recibieron la ración con alto contenido de energía tenían un mayor peso de glándula mamaria y mayor número de células secretoras (mayor contenido de ADN). Después del parto, las ovejas recibieron una alimentación similar. Sin embargo, las ovejas que habían recibido con un bajo nivel de energía durante la gestación mostraron una mayor ingesta de energía en los dos primeros días de lactación, sin diferencias posteriormente. Asimismo, la producción de leche se vio afectada por el nivel de energía suministrado a las ovejas durante la gestación, siendo las ovejas con más energía las de mayores producciones lácteas. Este aumento de producción puede deberse al mayor número de células mamarias secretoras demostradas pero también, a la mayor disposición de reservas corporales al inicio de la lactación (Cannas *et al.* 2002). De hecho, sabemos que al inicio de la lactación los requerimientos de energía y proteína (mantenimiento y producción) se elevan y no pueden ser suplidos con el consumo de materia seca por cuanto la capacidad de ingestión es limitada, entrando en un así denominado balance de energía negativo o BEN, iniciándose la movilización de grasa corporal y

consecuentemente una pérdida de peso de las ovejas al inicio de la lactación (Bell, 1995; Bocquier y Caja, 2004).

Los trabajos realizados por Joy *et al.* (2014) demostraron que la respuesta fisiológica a la suplementación con un concentrado energético a razón de 300 g/d durante las últimas diez semanas de gestación en ovejas de bajo potencial productivo elevaba la producción durante el inicio de la lactación, alcanzando el rendimiento máximo entre la semana 1–3 de lactación (después del parto). Asimismo, el contenido de grasa también fue mayor en la primera semana de lactación en comparación con las ovejas que no recibieron suplementación.

La alimentación de la oveja durante la lactación modula tanto el volumen, como la composición de la leche, por lo que el nivel de energía e ingesta de alimento es un factor esencial. Así pues, se observa una curva de lactación con un pico máximo de producción temprano tras el suministro de un plano nutricional “alto” durante la lactación temprana (Cannas *et al.* 2002). Por el contrario, la baja disponibilidad de alimento durante la etapa final de la gestación y durante los primeros días de lactación conlleva a un pico de producción menor y retrasado.

Sin embargo, los efectos de la alimentación en la composición de la leche no son tan claros, debido a las interacciones con el incremento del volumen de leche (efecto dilución). A mitad y final de lactación los cambios en la nutrición afectan principalmente la persistencia y/o a la recuperación de las reservas corporales (condición corporal), por lo que queda confundido también el efecto sobre la producción y composición de la leche (Bocquier y Caja, 2004).

#### 2.3.1.3 Manejo reproductivo

La actividad sexual en las ovejas se controla principalmente por el fotoperiodo (cantidad de luz emitida durante el día), lo que da lugar a un ritmo estacionalizado (Gootwine y Pollott, 2000; De Nicolo *et al.* 2008) aunque la intensidad de este efecto depende de razas y de la situación geográfica (Palacín *et al.* 2008).

Tradicionalmente, fertilidad y prolificidad son los parámetros que se utilizan en los sistemas de producción para medir su productividad (Martín *et al.* 2009). Sin embargo, en granjas más intensificadas, destinadas a la producción de leche ovina, es necesario incluir más parámetros para afinar la estrategia reproductiva, como la edad al primer parto, intervalo entre partos, duración de la lactación y duración del periodo seco (Hernández *et al.* 2011; Hernandez *et al.* 2012).

El inicio de la producción de leche viene tras acontecer el parto, por lo que el inicio de la lactación garantiza la permanencia de los animales dentro de la granja. Un objetivo claro para elevar la eficiencia de los sistemas productivos es minimizar los días improductivos de cada animal, esto es, los días que no se ordeñan (Mantecón, 2009). Este número de días viene determinado por su estado y ritmo reproductivo: en primer lugar, por el momento en el que comienza a producir leche por primera vez (edad al primer parto) y posteriormente, por la duración del periodo seco y el intervalo parto–parto (Mantecón, 2009). Otro objetivo claro, ligado al anterior es desestacionalizar el ritmo productivo de las ovejas (Mantecón, 2009; Vicario *et al.* 2012).

La implementación de un ritmo reproductivo adecuado debe ser elegido en concordancia con el que mejor se adapte a la granja hasta conseguir la mejor rentabilidad (Martín *et al.* 2009). En este sentido existen programas que permiten elegir los programas reproductivos ideales para cada granja (Martín *et al.* 2009).

La intensificación de la reproducción logra desestacionalizar los partos (Mantecón, 2009; Vicario *et al.* 2012), e incluso en épocas donde los precios del producto son más rentables, permitiendo que la empresa logre los mejores beneficios. Además, la intensificación de la reproducción permite una distribución homogénea de la carga de trabajo en la empresa ganadera y respetar los periodos de vacío sanitario y optimiza el uso de las instalaciones (Martín *et al.* 2009).

Un ritmo reproductivo intensivo ha demostrado dar lugar a mejores resultados productivos (Fogarty y Mulholland, 2013). Hasta la actualidad, se han

desarrollado varios sistemas de ritmos reproductivos intensivos. El sistema MORLAM que consiste en la exposición continua del morueco a las ovejas a excepción de un periodo corto de tiempo después del parto (Iniguez *et al.* 1986), lo que implica tener dos partos/año, con un intervalo parto-parto de menos 6 meses (Walton y Robertson, 1974).

El sistema CAMAL (*Cornell Alternative Month Accelerated Lambing*) cuya finalidad es lotificar el rebaño en cuatro grupos y exponerlos a intervalos bimestrales de apareamiento. Las ovejas que no estén gestantes del primer grupo son expuestas nuevamente al grupo de cubrición de ovejas del segundo grupo y nuevamente con las del tercer grupo de ovejas, etc., hasta que todas las ovejas queden gestantes. Con este tipo de sistema de apareamiento las ovejas tienen el potencial de parir cada 6, 8 o 10 meses si están constantemente expuestas a los grupos de apareamiento. Así, los carneros se exponen con todas las ovejas, incluidas las lactantes, cada dos meses. Con este sistema se pueden conseguir entre 1,3 a 1,4 partos/oveja/año (Robinson, 1980; Iniguez *et al.* 1986).

Otro sistema de apareamiento intensivo es exponer a las ovejas a los carneros a intervalos de tiempo de entre 7 a 9 meses (tres veces en 24 meses) lo que permite obtener hasta tres partos/oveja en 2 años (Notter y Copenhaver, 1980; Marai *et al.* 2009; Cameron *et al.* 2010; Zarkawi, 2011; Fogarty y Mulholland, 2013).

Asimismo, se han obtenido buenos resultados en relación a la productividad del rebaño cuando se ha implementado un sistema de apareamiento para conseguir cuatro partos/oveja en tres años (Menegatos *et al.* 2006).

El sistema de apareamiento intensivo STAR fue desarrollado en Cornell (EE.UU.) por Brian Magge, gerente de una ganadería ovina. Este sistema se basa en la búsqueda de un alto ritmo reproductivo, pero compatible con la biología de la oveja. El modelo se basa en la distribución de cinco parideras a lo largo de todo el año, llegando a obtener cinco partos/oveja en tres años (1,67 partos/oveja/año). El intervalo entre partos de este sistema es de 219 días,

alrededor de 7,2 meses  $[(3 \text{ años} \times 365 \text{ días}) / 5 \text{ partos}]$ ; como media 7 meses]. Teniendo en cuenta una media de duración de la gestación de 146 días, el intervalo entre el parto y la siguiente cubrición fértil debe ser de  $219 - 146 = 73$  días (algo más de dos meses) (Hogue, 1987; Lewis *et al.* 1996). La finalidad de este sistema es poder producir corderos–lechales o cebados y leche a lo largo de todo el año, y por otro lado, aumentar la fertilidad media, al tener la oportunidad de volver a cubrir las ovejas no gestantes lo más rápido posible (pasándolas al siguiente lote de apareamiento) (Lewis *et al.* 1996).

Para mejorar la organización y el manejo de las ovejas de raza Lacaune en condiciones de producción lechera intensiva en España, se describe asimismo, un sistema de cinco parideras al año (Hernández *et al.* 2011; Elvira *et al.* 2013a) similar al sistema STAR. A pesar de que se llega al objetivo de 1,4 partos/oveja/año, este sistema de manejo reproductivo intensivo puede tener consecuencias negativas elevando la mortalidad de corderos recién nacidos, por una gran concentración de estos. A partir de estas circunstancias, la modificación de sistemas intensivos de reproducción que compatibilicen la maximización del ritmo reproductivo, con la sanidad y bienestar de los animales, además de con la eficiencia económica global de la ganadería es uno de los objetivos concretos del presente trabajo, que se describirá posteriormente.

#### 2.3.1.4 Otros factores de manejo: ordeño

En razas más especializadas en producción de leche, y en manejo intensivo, una vez iniciado el periodo de ordeño, las crías pasan alimentarse a través de lactancia artificial y las ovejas al ordeño diario mecanizado. Esta práctica presenta una especial importancia en todas las especies de rumiantes, ya que la extracción de leche es necesaria para el mantenimiento de la lactación (Buxadé, 1996). El ordeño, por lo tanto, constituye la principal actividad de las ganaderías ovinas de producción de leche, tanto por el tiempo y la constancia que requiere, como por su influencia directa en el rendimiento económico de las ganaderías. En la actualidad, en las granjas lecheras intensivas de ovino, el ordeño se realiza dos veces al día (mañana y tarde); por ello, es necesario

conocer la influencia de la duración del intervalo entre ordeños sobre la producción y la composición de la leche (Mantecón *et al.* 2007). En vacas lecheras, la implementación de tres ordeños al día (intervalos de nueve horas entre ordeño) reduce la presión intramamaria. Por ello, el flujo de leche a la cisterna de la glándula es mayor, dejando libre a los alveolos y de esta manera la síntesis de leche es más eficiente. Esto provoca un aumento de la producción de leche y reduce los costos fijos, mejora la salud de la ubre al reducir la exposición a contaminantes y permite un mejor control de la mastitis (Allen *et al.* 1986), lo que mejora el manejo del rebaño (Klei *et al.* 1997). Sin embargo, un tercer ordeño también puede tener desventajas, que se relacionan con el aumento del costo de producción, problemas con la disponibilidad de mano de obra (aumento de un turno adicional), acortamiento del tiempo de descanso y alimentación de los animales, aumento de los problemas de pezuñas, etc., (Erdman y Varner, 1995). Por lo tanto, la implementación de un tercer ordeño dentro de la ganadería debe ser cuidadosamente valorado para sopesar sus ventajas o limitaciones.

El funcionamiento de la máquina de ordeño debe ser óptimo (esto es, rápido, completo y sin causar daño) para mantener la salud de la ubre y producir leche de alta calidad (Salama *et al.* 2005). El correcto funcionamiento de la máquina de ordeño reside en parámetros técnicos como el nivel de vacío, la relación de pulsación (masaje–succión), la velocidad de pulsación, las características de la pezonera (silicona o caucho) y su sustitución periódica, la capacidad de los colectores y la altura de la línea de la leche (preferentemente línea baja) (Díaz *et al.* 2004). Además de las características de la máquina de ordeño, es fundamental el mantenimiento y la revisión periódica, evitando problemas asociados a un funcionamiento defectuoso (Contreras *et al.* 2007).

Las ovejas a menudo se ordeñan a altas velocidades de pulsaciones (120 a 180 ciclos/minuto), a un bajo nivel de presión negativa (o nivel de vacío; 32–40 kPa) y una tasa del pulsador del 50%. La alta velocidad de las pulsaciones se utiliza para garantizar un óptimo reflejo de bajada de la leche y un ordeño preciso (Marnet y McKusick, 2001). En ovejas de raza manchega se ha descrito que el



aumento de la velocidad de pulsaciones de 120 a 180 ciclos por minuto y un nivel de vacío de 36 kPa y con una tasa del pulsador de 50% no tiene impacto perjudicial sobre el estado de salud de la ubre o del pezón (Peris *et al.* 2003).

Por otro lado, las instalaciones de conducción de leche se definen como líneas: altas (LA) medias (LM) o bajas (LB). La línea alta es una instalación en las que las boquillas de entrada de la leche están situadas a más de 1,26 metros por encima del nivel del suelo de la plaza del animal. En la línea media esa altura está situada entre 0 y 1,25 metros y en la línea baja las boquillas están situadas por debajo de la plaza del animal. Desde un punto de vista del ordeño para las ovejas, las mejores líneas son la baja y media, teniendo ambas ventajas e inconvenientes, aunque ambas son compatibles con un ordeño correcto. Todas las conducciones de leche deben tener una pendiente descendente hacia el receptor para facilitar el movimiento de la leche. Los sistemas de ordeño LM y LB han sido estudiados en ovejas manchegas y se ha demostrado que no existe ninguna influencia significativa sobre la producción de leche, el volumen de leche individual, la frecuencia de la caída de las pezoneras, el tiempo de ordeño, el contenido de células somáticas o la composición de la leche (Díaz *et al.* 2004).

El factor que limita la implementación de uno o dos ordeños al día es la capacidad de almacenamiento de leche en cisterna que tengan las ubres de las ovejas (Negrão *et al.* 2001). Parece que la liberación de oxitocina no es un factor que condiciona la producción cuando se utiliza la alta frecuencia de ordeños (Olechnowicz, 2012). La frecuencia de ordeños al día es determinante de la producción en animales lecheros. La implementación de un solo ordeño al día bien sea en lactación temprana o tardía, permite reducir el estrés metabólico del animal y mejora su calidad de vida, en comparación con la instauración de dos ordeños al día, pero reduce la productividad (Salama *et al.* 2003). No obstante, el ordeñar dos veces al día en vez de una vez implica un aumento en la producción de leche que oscila del 26 al 69% dependiendo de la genética de la oveja (Labussière, 1988). En vacas de alta producción se ha observado que mejora el bienestar al aumentar la frecuencia de ordeños (Allen *et al.* 1986), el bienestar podría estar asociado a la necesidad de la vaca de acudir a la sala de

ordeño para vaciar sus ubres dadas las incomodidades y malestar (distensión de la ubre debido a la acumulación de leche) que ello le pueda causar, ya que, entre otras cosas, ve reducida su movilidad e incluso encuentran dificultades para poder tumbarse. Por ejemplo, una reducción de la frecuencia de tres a dos ordeños al día en mitad de lactación incrementa la presión mamaria y ocasiona una pérdida de leche, así como provoca una reducción en el comportamiento de acostarse debido al dolor de la ubre (O'Driscoll *et al.* 2011). La instauración de un solo ordeño al día en comparación con dos provoca la reducción de producción de un 15 a un 48% (Knight *et al.* 1993); esta pérdida de producción por un solo ordeño al día ha sido descrito por otros autores, aunque la pérdida puede ser variable dependiendo de la raza de la oveja, etapa de lactación, nivel de producción, duración del ordeño y características individuales (Salama *et al.* 2003). Al inicio de la lactación el implementar un solo ordeño al día reduce la producción en un 55%; sin embargo, esta reducción es menor (20–30%) si el ordeño de una vez al día se la establece más tardíamente en la lactación (Morag, 1968; Labussière *et al.* 1974). En Nueva Zelanda, el ordeño de una sola vez al día en ovejas de raza Poll Dorset en la semana sexta de lactación redujo la producción en solo un 14% en comparación con el ordeño de dos veces al día (Geenty y Davison, 1982). Sin embargo, el reducir el número de ordeños sólo tiene sentido cuando la limitación principal en el sistema productivo es el personal, situación que aún no es la de nuestro país.

El aumento de la frecuencia de ordeños en situaciones experimentales, de cinco a siete veces por día produjo aumentos modestos de la producción, por lo que probablemente el factor limitante se deba a la velocidad de síntesis de leche (Olechnowicz, 2012). Los estudios realizados por Negrao *et al.* (2001) indican una mejor interacción entre la síntesis continua de leche y la expulsión de leche alveolar en tres ordeños diarios, lo que sugieren que un aumento de la frecuencia de ordeños puede mejorar el nivel de producción de las ovejas, tal y como se ha observado en vacas de alta producción (Klei *et al.* 1997).

El ordeño mecánico implica que las ubres de las ovejas deban estar sanas y que tengan una muy buena conformación (morfología) (Labussière, 1988). El tamaño

de la cisterna y los rasgos morfológicos de la ubre se correlacionan con la de secreción de leche y la cinética de emisión de leche durante el ordeño mecánico (Labussière, 1988; McKusick *et al.* 2003; Ayadi *et al.* 2011). En general una ubre bien conformada es menos propensa a la inflamación subclínica durante el ordeño (Olechnowicz, 2012).

En lo que respecta a la rutina de ordeño y a sus tres fases fundamentales (antes, durante y después del ordeño), deben considerarse diferentes aspectos de relevancia de cara a optimizar la extracción de leche de la ubre y minimizar la prevalencia de infecciones intramamarias. La rutina de ordeño comienza antes del propio ordeño, incluyéndose prácticas como el manejo correcto de las camas para mantener las ubres limpias y la revisión del vacío de la máquina de ordeño (Cambero Muñoz, 1999). Las fluctuaciones irregulares y cíclicas en el nivel de vacío provocan un retroceso de la leche hacia el pezón, lo que ocasiona que esta ingrese nuevamente a través del canal del pezón introduciendo patógenos (Olechnowicz, 2012). Asimismo, el tiempo prolongado del ordeño da como resultado una interacción diaria de exceso de leche en el tejido del pezón y la entrada simultánea de leche en el canal del pezón transfiriendo bacterias (McKusick *et al.* 2003).

### 2.3.2 Factores individuales

#### 2.3.2.1 Genéticos

La producción de leche puede verse influida por una combinación de factores genéticos y medioambientales. Los factores genéticos ocasionan variaciones sobre el nivel productivo y la composición de la leche entre individuos, dentro de la misma raza y entre razas. Esta característica de heterogeneidad de la producción y composición de la leche es una de las bases para la mejora de la producción a través de la selección de animales que mejoren dichas características (Barillet, 2007). La selección de animales para la producción de leche de una determinada raza se basa, por un lado, en la evaluación del fenotipo individual (rendimiento de todas sus lactaciones), la evaluación de su progenie y la de sus parientes más cercanos; y por otro lado, la evaluación de

su genotipo (genómica) relacionado con el mapeo de genes de importancia económica en animales de granja a través del uso de herramientas moleculares (Kumar, 2017). Sin embargo, los procesos de selección fenotípica llevan mucho tiempo y son costosos en comparación con las herramientas genómicas que permiten conocer de manera anticipada el potencial genético que posee el animal cuando éste aún es joven (Kumar, 2017).

El conocimiento de los factores genéticos involucrados en la regulación de la producción y composición de la leche revela las bases moleculares de estos procesos, lo que permite planificar y evaluar el programa de mejora genética (Barillet, 2007). La producción de leche ha sido tradicionalmente el carácter más importante considerado en los programas de selección de animales. Sin embargo, este carácter productivo se correlaciona indirectamente con otros caracteres productivos y funcionales, como el porcentaje de grasa y proteína, por lo que también se incluyen en los programas de selección (Barillet, 2007). Asimismo, se debe tener conocimiento de la heredabilidad repetitiva y de la correlación fenotípica y genética de los caracteres elegidos. Por ejemplo, la heredabilidad para la producción de leche es 0,30–0,40; para el porcentaje de grasa es 0,30–0,48; porcentaje de proteína 0,30–0,51; rendimiento de grasa 0,35, y rendimiento de proteína 0,45 (Petrovic *et al.* 2005). Aunque otro estudio sugiere heredabilidades menores para los rendimientos de leche, grasa y proteína ( $\sim 0.30$ ) y para el contenido de grasa y proteína ( $\sim 0.50$ – $0.60$ ) (Barillet, 2007).

El potencial productivo debe mostrar repetibilidad para que la producción de la primera lactación pueda aportar información genética útil sobre las lactaciones posteriores (Legarra y Ugarte, 2005). De hecho, se piensa que el rendimiento de leche alcanzado en lactaciones posteriores es el resultado del efecto de los genes que influyeron en el rendimiento de la primera lactación (Bagnicka *et al.* 2004). La mayoría de los procedimientos para predecir los valores de repetitividad en vacas (Sahin *et al.* 2012), ovejas (Legarra y Ugarte, 2005) y cabras (Bagnicka *et al.* 2004) consideran sólo las primeras lactaciones o implican una correlación genética de la primera lactación con todas las demás

(Bagnicka *et al.* 2004; Legarra y Ugarte, 2010). Para ello, la primera lactación siempre debe ser completa (Legarra y Ugarte, 2005).

Por otro lado, como se mencionó anteriormente, la aplicación de herramientas genómicas como la selección asistida por marcadores (por sus siglas en inglés *Marker Assisted Selection*, MAS) y la selección asistida por genes (por sus siglas en inglés, *Gene Assisted Selection*, GAS), permite la tipificación genética de animales, y la selección a temprana edad de aquellos con características mejorantes. Dichas características no son más que pequeños cambios funcionales en la variabilidad de su genotipo causado por los polimorfismos (Barillet, 2007). La asociación entre el polimorfismo del ADN y los caracteres de la producción se han estudiado para varios genes, incluidos los de prolactina, leptina, diacilglicerol-acil-transferasa (DGAT1), gen del receptor de la hormona de crecimiento, transportadores dependientes de ATP o transportadores ABC (del inglés *ATP-binding cassette*), y gen inhibidor de la proteasa, genes de la caseína y lactoglobulina, entre otros más. Pero de todos estos genes estudiados sólo los marcadores moleculares para el gen de prolactina, caseína, leptina y DGAT1 muestran una asociación directa con la producción y composición de la leche (Kumar, 2017).

#### 2.3.2.2 Fisiológicos

Dado que la lactación en la oveja abarca un periodo largo de varios meses, el estado fisiológico de los animales varía; este es un factor que afecta, a su vez, a la producción y, por lo tanto, a la eficiencia global del sistema productivo.

Entre estos factores abordaremos específicamente el estado de gestación y el estado metabólico de los animales.

##### 2.3.2.2.1 Gestación

Durante la gestación ocurren cambios anatómicos y fisiológicos importantes en el organismo de la oveja para garantizar el adecuado desarrollo del feto. En vacas lecheras se ha demostrado que la gestación provoca una disminución significativa en la producción debido a los cambios hormonales (estrógeno)

(Bachman *et al.* 1988) y a los requerimientos nutritivos por parte del feto, especialmente durante el último tercio de la gestación (Bell, 1995). Según Brotherstone *et al.* (2004) la pérdida de producción de leche en vacas puede ocurrir a partir del quinto mes de gestación, mientras que Bormann *et al.* (2002) informaron que esta disminución puede ocurrir mucho antes, a partir del tercer mes de gestación.

En otro estudio, Morrissey *et al.* (2008) demostraron que la producción diaria en ovejas lecheras gestantes disminuye durante los últimos 90 días de lactación, aunque, en este experimento, no se encontraron pérdidas significativas en la producción total/lactación, en comparación con ovejas no gestantes ( $246 \pm 7$  vs.  $259 \pm 7$  l;  $P=0,193$ ).

Asimismo, los efectos de la gestación sobre el pico de lactación en cabras lecheras han sido reportados por Knight y Wilde (1988); estos autores demostraron que la producción láctea es similar en cabras que conciben en la semana ocho de lactación (pico de lactación) y en cabras que no conciben durante las primeras ocho semanas de gestación. Sin embargo, en las últimas dos semanas antes del parto, la producción disminuye más rápidamente en estas cabras gestantes y sólo alcanzan el 57% de la producción total/ obtenida por lactación en cabras no gestantes.

En otro estudio se demostró que la gestación reduce la producción en cabras lecheras murciano–granadina a partir de la semana diez de gestación (semana 39 de lactación); las pérdidas lácteas fueron 0,32; 0,51; 0,85; y 1,11 l/d en la semana 10, 11, 12 y 13 de gestación respectivamente, lo que representa aproximadamente un aumento de 1,5 veces en la tasa de disminución durante este periodo en comparación con cabras no gestantes. Asimismo, el contenido de grasa y proteína fue menor en las cabras gestantes en comparación con cabras no gestantes (Salama *et al.* 2005).

El mecanismo exacto por el cual la gestación afecta la producción de leche sigue siendo desconocido, pero se cree que se relaciona con las hormonas liberadas durante este periodo, probablemente estrógenos, que es proporcional al número

de fetos (Manalu *et al.* 1997). El lactógeno placentario también podría influir. Éste alcanza su concentración máxima durante el último tercio de gestación y tiene efecto sobre la mamogénesis y la lactogénesis, alterando el metabolismo materno para que ésta se adapte al desarrollo y crecimiento del feto (Akers, 2016).

Aunque la gestación afecta al nivel productivo, es obvio que la sostenibilidad del sistema productivo obliga a mantener estas dos situaciones fisiológicas de gestación y lactación simultáneamente, lo que nos hace pensar que pueda afectar de alguna manera el ambiente epigenético de los fetos, vía reto metabólico de sus madres. Ésta reflexión constituye otro de los puntos claves del presente trabajo.

#### 2.3.2.2.2 Metabolismo

La nutrición materna debe proporcionar la suficiente energía y nutrientes para cubrir las altas demandas metabólicas que ocurren durante la gestación y lactación, concomitantes durante algunos meses en hembras multíparas (Swali y Wathes, 2007; Morrissey *et al.* 2008), y durante la gestación y el propio crecimiento corporal en hembras nulíparas gestantes (Luther *et al.* 2007).

En ovejas gestantes, pero no lactantes, la mayor parte de la energía disponible en forma de glucosa es requerida y consumida directamente por los tejidos uteroplacentarios hasta la mitad de gestación. Sin embargo, el consumo de energía por parte de la placenta disminuye con el tiempo de gestación, y al final de la gestación la mayor cantidad de energía es transferida directamente al feto (Bell, 1995). En hembras lactantes, la concurrencia de la gestación y la lactación constituyen una situación muy exigente. La lactación implica cambios metabólicos dramáticos tanto en tejidos mamarios y no mamarios (Bell, 1995). El principal nutriente durante esta etapa es la glucosa (Davis *et al.* 1979; Bell, 1995), que es requerida para la síntesis de lactosa, siendo el compuesto osmótico más importante de la leche (Bell y Bauman, 1997). En vacas lecheras de alta producción, los requerimientos mamarios de glucosa unos pocos días después del parto son 2,7 veces mayores que los del útero grávido durante el

último tercio de gestación (Bell, 1995). En cabras lecheras, dos días antes de la fecha prevista de parto, la captación mamaria de glucosa es relativamente mayor que del consumo de oxígeno o el flujo de sangre y por consiguiente indica el momento de inicio de la secreción abundante de leche y refleja esta alta demanda metabólica (Davis *et al.* 1979). Bajo este contexto, la evolución del aumento en las demandas de energía materna debido a la gestación y/o lactación debería cubrirse, en parte, por un aumento de la ingesta voluntaria. No obstante, en el caso de rumiantes lecheros y en el caso particular de la oveja lechera, es imposible aumentar la ingesta de materia seca, de manera particular durante el último tercio de la gestación y durante las primeras etapas de la lactación, debido al lugar ocupado por el útero grávido en la cavidad abdominal y a una disminución del consumo de materia seca (Joy *et al.* 2014). Durante estas etapas de bajo consumo de materia seca (final de gestación donde acontecen las mayores demandas de energía por parte del feto, y en el postparto temprano donde se observa un aumento drástico de la producción de leche), se establece un desafío metabólico intenso lo que ocasiona un estado de balance energético negativo (BEN o NEB, por sus siglas en inglés; *Negative Energy Balance*). Como consecuencia, las ovejas de alta producción lechera desarrollan procesos adaptativos en su metabolismo para poder hacer frente a estas altas demandas de energía, incluso cuando estas se encuentran en BEN (Bauman y Bruce Currie, 1980; Bell, 1995; Bell y Bauman, 1997). Estos procesos adaptativos dependerán de la gravedad del desafío metabólico, y pueden incluir aumentos en la frecuencia de alimentación durante el día, disminuciones de la actividad lipogénica o aumentos del metabolismo lipolítico y proteolítico para movilizar sustratos endógenos almacenados en las reservas corporales (Bauman y Bruce Currie, 1980; Bell y Bauman, 1997; Chilliard *et al.* 2000; Opsomer *et al.* 2017).

Para apoyar la partición de energía y nutrientes hacia el útero gestante, hacia la glándula mamaria en etapa de lactación y para cubrir las necesidades metabólicas basales de la hembra, debe ocurrir un cambio sustancial en las diferentes vías metabólicas relacionados con el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos (Opsomer *et al.* 2017).



El aumento de la gluconeogénesis hepática y la disminución de la oxidación de glucosa en los tejidos periféricos son procesos que permiten dirigir más glucosa hacia el tejido mamario, durante la lactación temprana, o hacia el útero grávido a final de gestación (Bell y Bauman, 1997; Overton y Waldron, 2004). Los principales precursores energéticos para la gluconeogénesis hepática en rumiantes son el propionato producto de la fermentación ruminal, el lactato que también es un precursor gluconeogénico a través del reciclaje del ácido láctico mediante el ciclo de Cori o de Alanina en el tejido esquelético, el uso de aminoácidos procedentes del catabolismo proteico, el uso de urea como nitrógeno no proteico y el glicerol liberado del tejido adiposo durante la lipólisis (Seal y Reynolds, 1993).

Como ya se ha mencionado anteriormente, la glucosa es el principal elemento energético necesario tanto para el crecimiento fetal así como para la síntesis de leche (Bell y Bauman, 1997). Sin embargo, también se puede obtener energía a través de otros compuestos glucídicos como el lactato. Se sabe que el aumento de la actividad de la enzima piruvato carboxilasa (PC) aumenta la conversión de lactato en piruvato que se usan como intermediario en la generación de energía a través de la gluconeogénesis hepática (Baird *et al.* 1983). Otra fuente de energía es mediante el reciclaje de carbono a través de las vías metabólicas adicionales como el Ciclo de Alanina (Baird *et al.* 1983). En general, la utilización del lactato durante la gestación es mayor, especialmente durante la etapa de final de gestación, tanto en ovejas (Faichney *et al.* 1981), como en vacas (Baird *et al.* 1983). Por otro lado, durante la lactación temprana (no concurrente con gestación), la contribución del lactato como sustrato de energía es menor tanto en ovejas como en vacas (Baird *et al.* 1983).

Otra ruta metabólica adoptada por los rumiantes para cubrir el déficit de energía es la movilización de reservas de grasa corporal (lipólisis) y la reducción de la síntesis de ácidos grasos (lipogénesis). La degradación del tejido adiposo libera ácidos grasos no esterificados (NEFA, por sus siglas en ingles *non-esterified fatty acids*) y glicerol, en respuesta a la liberación de señales hormonales de glucagón, corticosteroides y catecolaminas (Ospina *et al.* 2013). Los NEFA y el

glicerol se movilizan a su vez al torrente sanguíneo y se utilizan como fuente de energía por parte de los tejidos y dentro de ellos, por el tejido mamario. De hecho, durante el pico de lactación, cuando los rumiantes lecheros sufren un estado de BEN más acusado, los niveles de NEFA en sangre son altos y, por lo tanto, su captación por parte de la glándula mamaria es alta. De hecho, los NEFA pueden llegar a representar hasta el 40% de la producción de ácidos grasos de la leche durante los primeros días de lactación en vacas lecheras (Bell, 1995; Ospina *et al.* 2013).

Por lo tanto, la concentración de NEFA en plasma puede usarse como estimador de la magnitud de la lipomovilización del tejido adiposo en rumiantes (Strang *et al.* 1998). Sin embargo, los NEFA que no usa la glándula mamaria, van al hígado, donde pueden ingresar en diferentes vías metabólicas. En primer lugar, pueden completar su oxidación a través de la vía metabólica del ácido tricarboxílico para generar ATP (adenosín trifosfato); en segundo lugar, pueden combinarse a lipoproteínas de baja densidad para ser transportados fuera del hígado; tercero, pueden metabolizarse a cuerpos cetónicos a través de la ruta parcial de la  $\beta$ -oxidación o mediante la oxidación peroxisomal; y cuarto, cuando las anteriores vías están copadas, pueden almacenarse en el hígado como triglicéridos (Strang *et al.* 1998), lo que ocasiona un aumento del contenido graso en el hígado (Ospina *et al.* 2013; Drackley *et al.* 2001). En este sentido, los niveles elevados de NEFA más allá de la capacidad oxidativa hepática pueden ocasionar el desarrollo de esteatosis hepática (hígado graso) (Emery *et al.* 1992; Strang *et al.* 1998; Chilliard *et al.* 2000; Overton y Waldron, 2004).

Los cuerpos cetónicos, como la acetona, el acetoacetato y el  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB), se producen por oxidación parcial de los ácidos grasos y NEFA o a través del ciclo hidroximetilglutaril CoA de la cetogénesis. El acetoacetato puede convertirse espontáneamente en acetona y  $\text{CO}_2$  y también puede ser metabolizado por la enzima  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa en  $\beta$ HB, que a su vez, puede usarse como fuente de energía para varios tejidos (Ospina *et al.* 2013; Holtenius y Holtenius, 1996) durante las etapas de mayor demanda de energía (Harmeyer y Schlumbohm, 2006). No obstante, el aumento de la

concentración de cuerpos cetónicos en sangre podría aumentar enormemente el riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas; de manera particular, cetosis clínica que suele ocasionar pérdidas significativas de la producción de leche en ovejas y supone un riesgo alto para la integridad de éstas (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Schmitt *et al.* 2018).

El uso de aminoácidos resultante del catabolismo proteico (Bell, 1995), el reciclaje de urea hacia el rumen y la disminución de la excreción (Caldeira *et al.* 2007) son otras de las estrategias metabólicas maternas adicionales necesarias que se utilizan para cubrir la alta demanda de energía observada durante la gestación y la lactación en rumiantes (Bell, 1995; Bell y Bauman, 1997). El tejido muscular es una fuente de aminoácidos que se obtienen a partir del catabolismo proteico (Bell, 1995; Caldeira *et al.* 2007). Los aminoácidos liberados se movilizan para apoyar la gluconeogénesis o cetogénesis hepática en rumiantes (Bauman y Bruce Currie, 1980). Existen varios indicadores metabólicos que pueden ser usados como estimadores de la tasa de degradación de la proteína muscular, como son la relación entre 3-metilhistidina/creatinina en orina y la determinación de urea en plasma (Drackley *et al.* 2001; Caldeira *et al.* 2007). Por otro lado, la concentración de nitrógeno ureico en la sangre es un indicador de la concentración de la proteína degradable en el rumen (RDP, por sus siglas en inglés *Rumen Degradable Protein*); por lo tanto, es útil para la determinación de la tasa de utilización y excreción de nitrógeno por parte de los rumiantes (Caldeira *et al.* 2007). Los niveles de urea superiores a 30 mg/dl en ovejas no gestantes y no lactantes indicarían un uso excesivo de esta vía metabólica (Caldeira *et al.* 2007). Asimismo, en el caso de sobrealimentación, los valores altos de urea pueden ser el resultado de un aumento de la producción de amoníaco en el rumen y un exceso de compuestos nitrogenados exógenos que son absorbidos desde el intestino y que no pueden ser almacenados en el organismo (Caldeira *et al.* 2007).

Así pues, el desafío metabólico de la oveja durante la gestación con o sin lactación (oveja adulta o cordera), puede resultar en una disminución de la eficiencia productiva y reproductiva en la lactación subsiguiente (Karagiannis

*et al.* 2014), por lo que lo consideramos un factor importante determinante o influyente, al menos, de la eficiencia global de los sistemas productivos. Durante la gestación tardía (último tercio de gestación), como hemos visto anteriormente, se pueden inducir enfermedades metabólicas como cetosis, toxemia de la gestación, hipocalcemia e hipomagnesemia (Harmeyer y Schlumbohm, 2006; Karagiannis *et al.* 2014). Se ha demostrado que estas enfermedades metabólicas afectan la producción subsiguiente en ovejas (Karagiannis *et al.* 2014) y vacas lecheras (Ospina *et al.* 2010). En vacuno de leche, una prueba a la presencia de cuerpos cetónicos en leche (puntuación de +1 y +2) se asoció con una reducción en la producción diaria entre 1,0 y 1,4 kg de leche (Dohoo y Martin, 1984). En cabras lecheras se encontró una producción reducida cuando los niveles de  $\beta$ HB fueron mayores a 1,7 mmol/l antes o después del parto (Zobel *et al.* 2015a). De manera similar en ovejas lecheras la concentración elevada tanto de  $\beta$ HB ( $> 0,875$ ) como de NEFA ( $> 0,350$ ) antes o después del parto repercuten en el rendimiento durante la lactación subsiguiente (Karagiannis *et al.* 2014). En este mismo estudio las ovejas con una CC  $< 2,75$  o  $> 3,5$  durante la lactación temprana tienen un 31,3 y 33,3% de predisposición a desarrollar trastornos metabólicos (Karagiannis *et al.* 2014).

Un factor asociado al desafío metabólico durante el pre y postparto temprano, y, por tanto, también asociado al desempeño productivo, es la duración del periodo seco. La producción de leche se ve afectada directamente por éste (Zobel *et al.* 2015b). La duración del periodo seco es crucial para lograr una salud adecuada de la glándula mamaria en la siguiente lactación (Zobel *et al.* 2015b). Así pues, se ha observado que un periodo seco menor a 30 días y mayor a 91 hasta 120 días reduce la producción de leche en ovejas de raza lacaune (Hernandez *et al.* 2012).

Existen varias posibilidades para evaluar el estado metabólico de los rumiantes basándose en el análisis de muestras de sangre, que están relacionadas con el metabolismo energético del animal (Hu *et al.* 1990). Además de la determinación directa del perfil metabólico, debemos considerar la evaluación del peso y la condición corporal (CC), que son aspectos mucho más prácticos y preferibles

por el ganadero. De hecho, los cambios de peso y CC se usan a menudo como un indicador de la idoneidad del estado de nutricional de la oveja durante la gestación (mitad y final de gestación) y durante el postparto. Sin embargo, la determinación del peso al final de la gestación tiene sus limitaciones a menos que se conozca el número de fetos y estas ovejas puedan ser comparadas con ovejas con igual número de fetos (Russel, 1984; Sanson *et al.* 1993). Por lo tanto, la evaluación del peso y CC es esencial para interpretar correctamente el estado nutricional de las ovejas medido en la cantidad de reservas corporales (Caldeira *et al.* 2007). Smith y Sherman (2009) sugieren que las ovejas deben mantener una CC entre 3,0 y 3,5 al final de la gestación 3,5 al parto y entre 2,0 y 2,5 durante la lactación para que tengan un equilibrio energético adecuado.

En general, existe poca información sobre si estas estrategias son suficientes para mantener la productividad y la salud de las ovejas de alta producción lechera, y sobre el efecto igualmente, en la progenie, lo que ha constituido uno de los bloques de interés para el diseño de nuestro estudio.

### 2.3.3 Factores del ambiente uterino

#### 2.3.3.1 Programación del desarrollo

La fecundación da lugar al desarrollo de un embrión y desde ese momento se desencadenan una serie de procesos fisiológicos complejos. Una vez implantado el embrión en el útero, se inicia el intercambio de señales entre la madre y el embrión que permite su adecuado crecimiento y desarrollo hasta convertirse en feto. Los aspectos biológicos involucrados en el desarrollo del feto desde su concepción hasta su nacimiento son relativamente bien conocidos (Dziuk, 1992; Spencer *et al.* 2004; Kenyon y Blair, 2014). Sin embargo, es más escaso el conocimiento de cómo los factores medioambientales tales como nutrición, tipo de gestación (número de fetos gestados), edad, número de partos, nivel productivo de la madre o disponibilidad de O<sup>2</sup> podrían influir sobre el desarrollo del feto (Kenyon y Blair, 2014). Estos factores medioambientales, pero maternos, en realidad epigenéticos, pueden tener un efecto sobre el desarrollo intrauterino del feto en cualquier fase de gestación, lo que puede

repercutir en su crecimiento, salud y productividad durante la vida postnatal, e incluso estos efectos pueden ser transmitidos a la siguiente generación (Kenyon y Blair, 2014). Esta serie de efectos, que son resultado de las condiciones intrauterinas durante el desarrollo prenatal e incluso durante el desarrollo postnatal temprano y que repercuten en su vida postnatal, se denominan “programación del desarrollo” (Kenyon y Blair, 2014; Patel, 2011). La programación del desarrollo puede ocurrir en cualquier ventana del desarrollo prenatal y comprende las adaptaciones fisiológicas y metabólicas que adquiere el feto en respuesta a cambios en el ambiente intrauterino, lo que puede provocar cambios estructurales y funcionales de genes, células, tejidos e incluso de órganos completos, que influyen de manera permanente en las condiciones con las que el individuo se enfrentará a la vida postnatal (Armitage *et al.* 2004). Los efectos de la programación del desarrollo están influenciados por el momento en que se producen (ventana del desarrollo: prenatal o postnatal temprano; aunque es más crítico el periodo prenatal), por el nivel de gravedad de la situación, por la duración de las situaciones de desequilibrio, así como la respuesta adaptativa de la madre que puede mitigar en mayor o menor grado este ambiente intrauterino adverso para el feto (Addah *et al.* 2012). La disponibilidad de nutrientes y oxígeno, como se mencionó anteriormente, pueden estar limitada por factores maternos, como estados de desnutrición, o por factores placentarios, en caso de desarrollo y función placentaria anormal que provocan insuficiente transferencia de nutrientes y oxígeno al feto (Addah *et al.* 2012). Asimismo, existen también efectos relacionados con situaciones de hipertermia o estrés materno que provocan cambios en el medio intrauterino (Morrison, 2008).

Varias hipótesis han sido formuladas para intentar explicar los mecanismos detrás de la programación del desarrollo y uno de éstas es la de Neel (1962), quien introdujo el concepto de “genotipo ahorrador” que se refiere a que un individuo cuenta con un grupo de genes, que le confieren una eficiencia extrema en la acumulación y/o utilización del suministro de energía (Gonzalez-Bulnes y Ovilo, 2012). Estas adaptaciones les permiten a los individuos engordar rápidamente en tiempos de excedentes de alimento y por lo tanto tendrían una

ventaja de supervivencia en los periodos de escasez de alimento. La hipótesis del “genotipo ahorrador” intenta explicar la relación entre un crecimiento fetal y postnatal deficiente con un mayor riesgo de desarrollar una alteración en la tolerancia a la glucosa y síndrome metabólico en la vida postnatal (Hales y Barker, 2001). Asimismo, esta hipótesis propuso que los factores medioambientales son la causa dominante en el desarrollo de la diabetes mellitus no insulino dependiente y que los elementos claves que ocasionan son: un desarrollo y función deficiente de las células  $\beta$ -pancreáticas, un vínculo entre la mala nutrición temprana y la diabetes tipo II (Hales y Barker, 2001) (Figura 22).

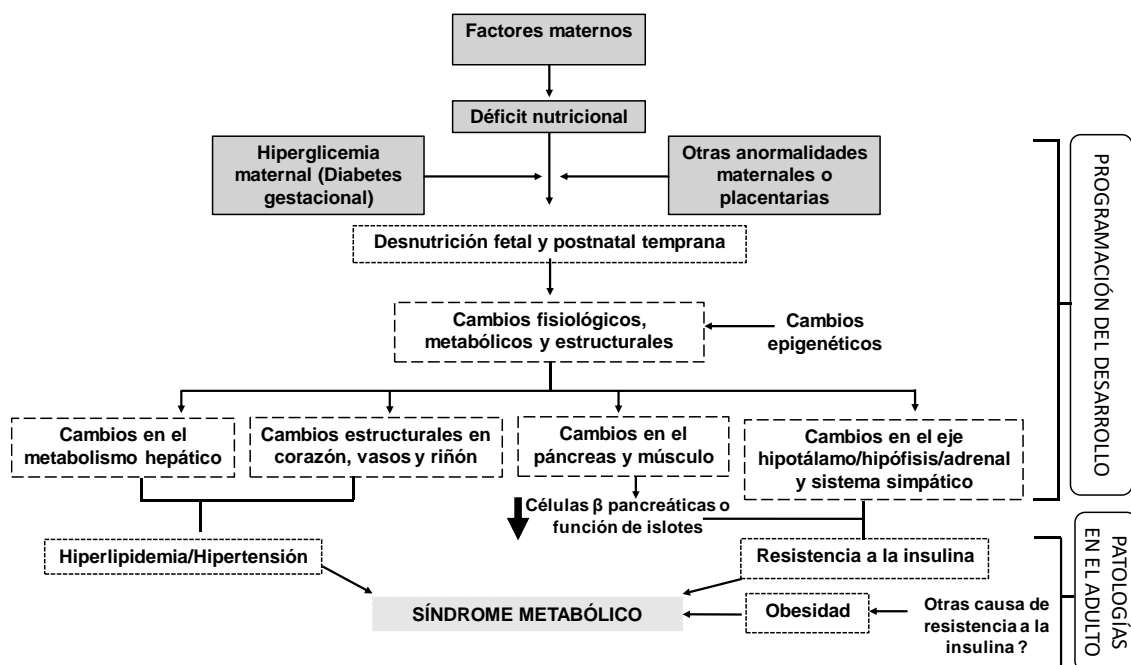


Figura 22. Diagrama de la Teoría de Barker del “fenotipo ahorrador” (Adaptado de (Hales y Barker, 2001).

En la actualidad, se ha prestado principal atención al papel de los mecanismo moleculares que provocan modificaciones hereditarias reversibles de la función génica que ocurren sin provocar cambios en las secuencias de ADN, lo que se conoce como cambios epigenéticos (Gicquel *et al.* 2008). Estos mecanismos epigenéticos desempeñan un papel importante en la regulación de la expresión génica, y son necesarios para lograr la expresión estable o la represión de

ciertos genes en etapas definidas del desarrollo; posiblemente, podrían ser uno de los mecanismos principales de la programación del desarrollo en la vida intrauterina o en el desarrollo postnatal temprano (Gicquel *et al.* 2008) (Figura 23). Los mecanismos moleculares subyacentes que provocan las modificaciones epigenéticas incluyen principalmente la metilación de ADN, modificación de las proteínas histonas y remodelación de la cromatina y MicroARNs no codificantes (Gicquel *et al.* 2008; Chavatte-Palmer *et al.* 2018).

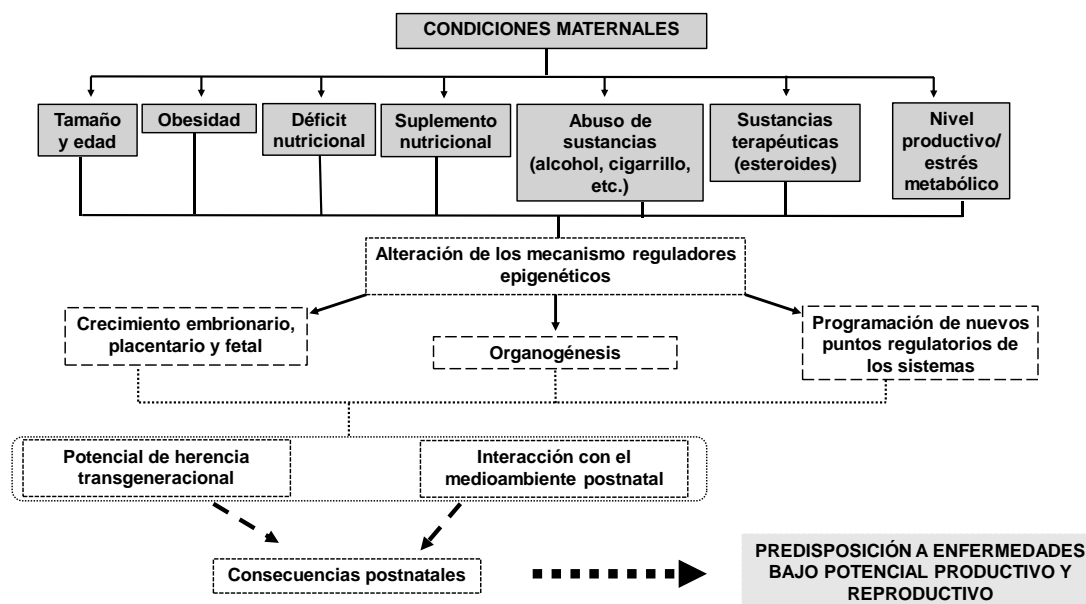


Figura 23. Consecuencias potenciales de las interacciones epigenéticas medioambientales sobre la salud y productividad en primera y segunda generación (Adaptado de (Mcmillen y Robinson, 2005).

Como se mencionó anteriormente, el embrión y el feto son altamente susceptibles a cambios en su ambiente intrauterino y pueden modificar la expresión de su genoma mediante cambios epigenéticos para adaptarse a dichas condiciones intrauterinas (Addah *et al.* 2012). Además de cambios epigenéticos, se observan cambios fenotípicos claros, en respuesta a condiciones intrauterinas marcadas, por la disponibilidad de nutrientes y oxígeno, que el feto requiere para su adecuado desarrollo. Si el feto no recibe un adecuado suministro de nutrientes, ya sea por una deficiencia nutricional de la madre, por una demanda metabólica exagerada o por una función placentaria



deficiente, se produce el llamado “retraso del crecimiento intrauterino” (RIUC, o IUGR por sus siglas en inglés, *Intrauterine Growth Retardation*) que conlleva al nacimiento de neonatos de bajo peso y tamaño mucho menor de lo esperable según las características del tiempo de gestación, especie y raza (Greenwood y Bell, 2003). Estos fetos, como consecuencia de la insuficiente disponibilidad de nutrientes y/o oxígeno, tienen además un menor desarrollo corporal durante la vida postnatal, que puede afectar a su salud y desempeño productivo futuro (Caton y Hess, 2010). Los corderos con crecimiento intrauterino retardado se ven afectados por un aumento de la mortalidad perinatal y postnatal, disminución del potencial de crecimiento y alteraciones en la composición de la canal y la calidad de la carne; lo que afecta la rentabilidad económica. Además, estos individuos desarrollan una programación prenatal que da lugar a patrones de engrasamiento inadecuados cuando los animales están expuestos a abundancia de alimentos (engorde en fases de cebo) (Ford *et al.* 2007).

Los fenómenos de retraso del crecimiento intrauterino durante la gestación han sido desarrollados y estudiados en varios modelos animales entre los que destaca la oveja (Morrison, 2008). Los modelos para el estudio de fenómenos de IUGR en ovejas (Figura 24), incluyen modelos con ablación quirúrgica de carúnculas endometriales, la inducción experimental de estrés hipertérmico materno, ligadura de la arteria umbilical o embolización de la placenta durante la gestación tardía, modelos de nutrición que incluyen deficiencias y excesos en corderas u ovejas gestantes y administración exógena de glucocorticoides durante la gestación, debido a la influencia conocida de estos sobre el crecimiento y desarrollo fetal (Morrison, 2008). La disminución del aporte de oxígeno a causa de la hipoxia hipobárica de la oveja (en altitudes superiores a los 3500 metros sobre el nivel del mar) es también una causa importante de alteraciones en el desarrollo prenatal que podría ocasionar un crecimiento intrauterino retardado y, con ello, un menor peso al nacimiento y modificaciones en los patrones de crecimiento postnatal (Parraguez *et al.* 2005).

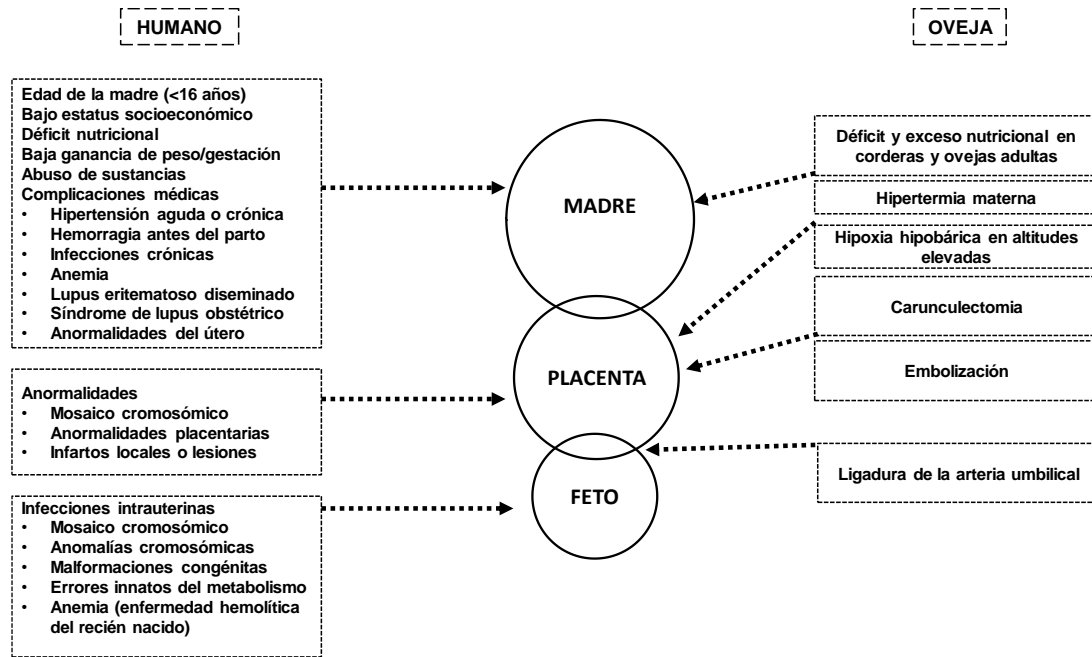


Figura 24. Esquema de los factores medioambientales, maternos, placentarios y fetales que pueden ocasionar un retraso en el crecimiento intrauterino (IUGR) en humanos y en modelos ovinos que alteran la función placentaria, conduciendo a la hipoxia fetal e hipoglucemia ocasionando (IUGR) (Adaptado de (Morrison, 2008)).

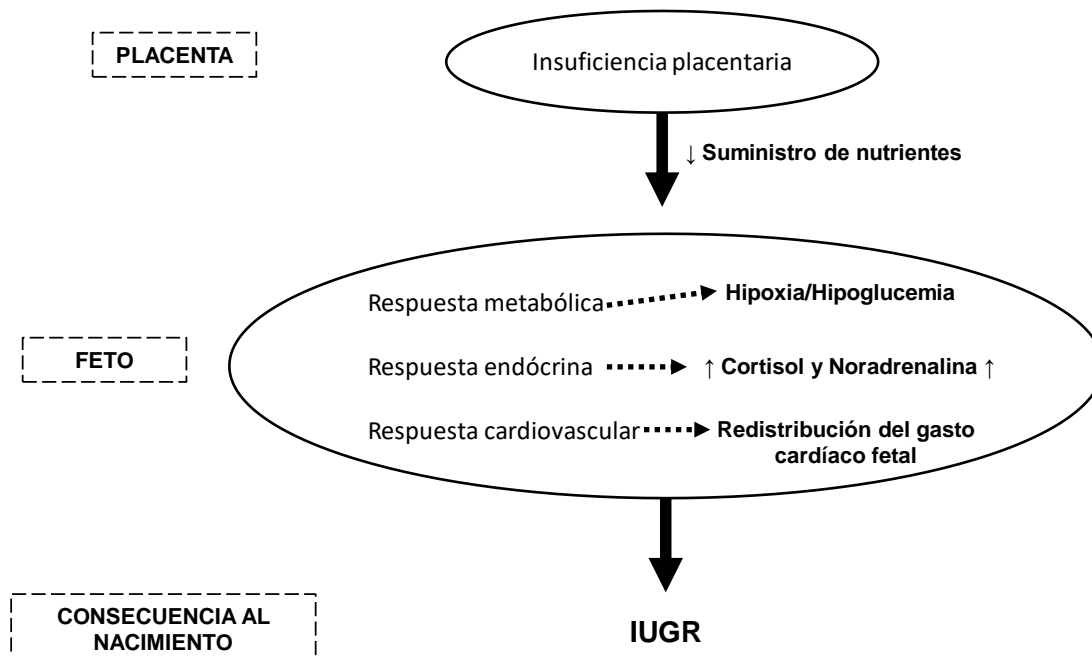


Figura 25. Adaptaciones metabólicas, neuroendocrinas y cardiovasculares en el feto en respuesta a una reducción del suministro de nutrientes debido a una insuficiencia placentaria o debido solo a una disminución en el aporte de nutrientes (déficit placentaria).

nutricional), necesarias para la supervivencia a un estado de retraso del crecimiento intrauterino (Adaptado de (Morrison, 2008).

El número de parto, el número de corderos gestados y el efecto de la edad de la oveja también han sido considerados para investigar el fenómeno de IUGR (Gootwine y Rozov, 2006; Gootwine *et al.* 2007; Gardner *et al.* 2007) . Esto se debe a que las ovejas jóvenes (corderas) o de primer parto paren corderos más livianos que las ovejas de segundo o tercer parto. Asimismo, las ovejas que gestan varios fetos se asocian con el desarrollo de IUGR (Gootwine y Rozov, 2006), ya que los descendientes tendrán bajo peso y bajas tasas de supervivencia tanto pre y postnatal (Figura 26). Esto puede ser debido a la baja capacidad fisiológica de la oveja para suministrar adecuadamente a los fetos los nutrientes necesarios, así como también la capacidad física de la oveja para soportar un mayor número de fetos (Kenyon y Blair, 2014; Moallem *et al.* 2015).

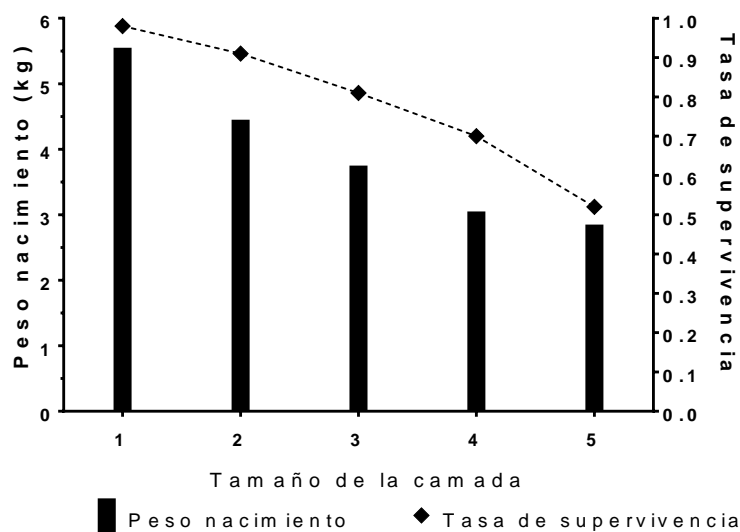


Figura 26. Peso al nacimiento y tasa de supervivencia perinatal de corderos (n=4.781) nacidos de ovejas afec-assaf, de acuerdo al tamaño de la camada (Adaptado de (Gootwine y Rozov, 2006).

### 2.3.3.2 Nutrición materna

La manipulación de la nutrición en la hembra gestante (bien sea por exceso o déficit de nutrientes), ya sea por largo o corto periodo de tiempo durante las

diferentes ventanas de desarrollo (peri-concepcional, gestación temprana, media y tardía) (Figura 27), puede tener efectos pronunciados tanto sobre el embrión como el feto; efectos que posteriormente repercutirán en su desarrollo, salud y desempeño productivo durante la vida postnatal (Mcmillen y Robinson, 2005; Symonds *et al.* 2007; Morrison, 2008). Los efectos de la programación nutricional pueden ser directos o mediados por cambios endócrinos de la madre. Es importante enfatizar que las consecuencias de la nutrición de la madre sobre el crecimiento del feto durante la etapa perinatal, no solo se reflejan en la tasa de crecimiento, morbilidad y mortalidad postnatal temprana, sino que también es probable que continúen a lo largo de toda su vida (Caton y Hess, 2010).

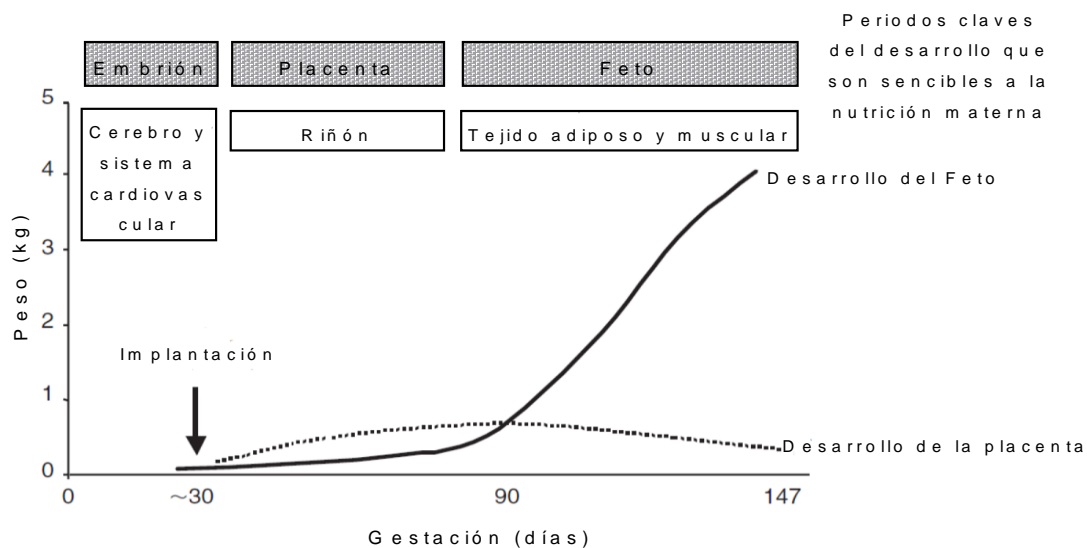


Figura 27. Resumen de las principales ventanas de desarrollo durante el periodo reproductivo de las ovejas durante las cuales la manipulación de la nutrición materna modula significativamente el desarrollo placentario y fetal. Los recuadros en gris representan las ventanas de plasticidad del desarrollo con respecto a órganos individuales (Adaptado de (Symonds *et al.* 2007).

El déficit nutricional durante la gestación temprana y a mitad, probablemente no reduzca el peso al nacer, ni tampoco influya sobre el peso en la etapa de desarrollo postnatal en comparación con los déficit que ocurren durante la última etapa de gestación (Kenyon y Blair, 2014). Esto parece sugerir que cualquier efecto ocasionado por un déficit nutricional que suceda durante la gestación temprana y hasta mitad de

gestación podría ser atenuado con un nivel de nutrición adecuado durante la última etapa de gestación, sin ocasionar diferencias en el peso al nacimiento. Así, en un estudio llevado a cabo en ovejas multíparas que recibieron el 50% (grupo restringido) o 100% de sus requerimientos (grupo control) entre los días 28 a 78 de gestación y que posteriormente recibieron el 100% de sus requerimientos desde el día 79 hasta el parto, los corderos nacidos de ambos grupos no mostraron diferencias en su peso al nacimiento. Sin embargo, la ganancia media diaria de peso entre los días 60 y 120 después del nacimiento fue mayor en los corderos de madres con restricción y estos corderos se mantuvieron más pesados y tuvieron un mayor contenido de tejido adiposo en comparación con los corderos del grupo control (Ford *et al.* 2007).

El feto, durante su desarrollo, puede adaptarse a los estados de desequilibrio nutricional de la madre, alterando su producción hormonal o la sensibilidad de los tejidos a hormonas. Por ejemplo, entre las hormonas que regulan el crecimiento fetal y, por lo tanto, la necesidad de nutrientes, la insulina tiene una función central (Kenyon y Blair, 2014; Opsomer *et al.* 2017). El feto puede alterar su metabolismo, un ejemplo claro es el cambio de la oxidación de la glucosa por la de aminoácidos, pero, además, puede redistribuir el flujo de sangre hacia órganos más importantes como cerebro e hígado a costa del desarrollo muscular y de otros órganos (pulmón, intestino, riñón) y sistemas (sistema inmune); incluso pueden adaptarse a un crecimiento más lento para reducir las exigencias de nutrientes. Estas adaptaciones que desarrolla el feto conllevan cambios permanentes en la estructura y función del cuerpo (Gicquel *et al.* 2008; Morrison, 2008).

Como se mencionó anteriormente, la corrección durante la última etapa de gestación de déficits nutricionales que ocurrieron durante la gestación temprana y media podría evitar efectos directos sobre el peso al nacer de su descendencia (Ford *et al.* 2007). Sin embargo, esta pequeña ventana de modificación en la dieta de la oveja durante este tiempo puede dar lugar a cambios fisiológicos, estructurales o bioquímicos en la descendencia que duran toda la vida. El efecto más evidentes son alteraciones en la tolerancia a la glucosa y la resistencia a

la insulina (Ford *et al.* 2007). Así mismo, el metabolismo adiposo puede verse alterado en caso de restricción nutricional materna durante las primeras etapas de desarrollo, ya que se demostró que los corderos machos nacidos de ovejas con restricción de nutrición tuvieron una mayor acumulación de tejido adiposo durante las etapas de crecimiento y desarrollo postnatal (Ford *et al.* 2007). En el feto ovino, la formación de las fibras musculares (primarias y secundarias) comienzan durante la gestación temprana alrededor del día 32 y 38 respectivamente y se cree que esta completa antes del nacimiento (Wilson *et al.* 1992; Brameld y Daniel, 2008). El número de fibras primarias parece estar determinadas genéticamente. Sin embargo, el número de fibras secundarias depende de la nutrición de la madre; por lo tanto, la restricción de nutrientes durante la gestación temprana puede causar una reducción de la formación de fibras musculares (Brameld y Daniel, 2008).

En cualquier caso, estas condiciones del ambiente materno, aun en condiciones de manejo adecuado en la granja y de salud (adecuado nivel nutritivo), pero de desafío metabólico, pueden tener consecuencias en la misma oveja y en su progenie, siendo este punto otro de los bloques esenciales para el desarrollo del presente trabajo de Tesis Doctoral.

#### 2.3.3.3 Crecimiento fetal y peso al nacimiento

El desarrollo del feto, y por lo tanto su peso al nacimiento, es el resultado de interacciones entre factores genéticos, ambientales y maternos. En estudios epidemiológicos en humanos se sugiere que los factores genéticos son responsables de entre el 30 y 80% de la variación del peso al nacimiento debido a la interacción entre los genes maternos, paternos y fetales que se expresan durante el desarrollo embrionario y fetal (Johnston *et al.* 2002). En ovejas se ha demostrado que las variantes genéticas fetales, maternas y paternas tienen una baja tasa de heredabilidad en el peso al nacimiento (Gardner *et al.* 2007; Caton y Hess, 2010). Por lo tanto, la variabilidad del peso al nacimiento de los corderos es muy amplia (Gardner *et al.* 2007). Esta variabilidad es inducida

principalmente por el ambiente en el que se desarrolla el feto (Swali y Wathes, 2006), que depende a su vez del ambiente en que se encuentra la oveja.

Entre los factores ambientales, la época de reproducción tiene un efecto muy importante sobre el peso al nacimiento de los corderos (Gootwine y Rozov, 2006). Este efecto se explica por la disponibilidad de nutrientes para la oveja, especialmente en ovejas de carne que están en condiciones de pastoreo que dependen mucho de la temporada (Gootwine y Rozov, 2006). Otros cambios son inducidos por las diferencias hormonales maternas que dependen principalmente de la duración del fotoperiodo (Hernández *et al.* 2011; Elvira *et al.* 2013b). Por todas estas razones, los factores maternos mediados a través del ambiente uterino (ambiente hormonal, metabólico y funcionalidad de la placenta) son el factor principal implicado en el desarrollo del feto y en la función de sus órganos, llegando a representar por si sola más del 30% de la variación del peso de la descendencia. La nutrición materna durante la gestación es esencial para un suministro adecuado de los nutrientes necesarios para el desarrollo del feto desde la concepción (Robinson *et al.* 2002). Por tanto, los extremos en el nivel de nutrición materna (excesos o déficit) pueden afectar significativamente el crecimiento prenatal y postnatal y programar el desarrollo de la descendencia, afectando su desempeño productivo futuro (Caton y Hess, 2010). Por otro lado, los desafíos metabólicos maternos sufridos durante altas demandas de energía (lactación concomitante con gestación o gestación concomitante con crecimiento de la madre joven), podrían suponer una situación de déficit nutricional y por lo tanto podrían comprometer el desarrollo del feto dentro del ambiente intrauterino, con las consiguientes alteraciones fisiológicas, metabólicas y hormonales (Celi *et al.* 2008). De manera similar, algunos estudios sostienen que una nutrición adecuada durante la gestación no es suficiente para asegurar una descendencia saludable, ya que existen otros factores maternos que condicionan el desarrollo fetal; por ejemplo, la limitación en la capacidad uterina que condiciona el desarrollo de la placenta y por consiguiente el suministro de nutrientes hacia el feto en el caso de gestación múltiple (Gardner *et al.* 2007). Asimismo, otros elementos maternos que podrían restringir el desarrollo del feto a causa inadecuado suministro de nutrientes se

relacionan con el tamaño, edad, número u orden de parto y nivel de producción (Gardner *et al.* 2007; Kenyon y Blair, 2014; Kamal *et al.* 2014; Swali y Wathes, 2006; Swali y Wathes, 2007). En vacas lecheras se ha observado que los terneros nacidos de vacas primíparas eran significativamente más pequeños que los nacidos de vacas múltiparas (Swali y Wathes, 2007). De la misma manera, Kamal *et al.* (2014) reportaron que las becerras nacidas de novillas muy jóvenes (entre 20,3 a < 22 meses de edad) tenían un peso al nacimiento comparativamente más bajo en comparación con las becerras nacidas de novillas mayores. Asimismo, el número de parto en ovejas puede condicionar la productividad en términos de peso del cordero al nacimiento, pues se ha observado que el peso del cordero se incrementa hasta el cuarto parto y después de este se producen partos de corderos más ligeros (Gardner *et al.* 2007); el mayor aumento del peso al nacimiento se observa entre el primer y segundo parto. Del mismo modo, en el caso de la vaca lechera, el peso al nacer de los terneros tanto machos como hembras mostró un aumento curvilíneo con la paridad de la madre desde el primer hasta el tercer parto, seguido de una disminución conforme avanza el número de parto (Kamal *et al.* 2014).

La edad de la madre también influye en el peso de la descendencia, independientemente del número de parto. Cuando la primera gestación de la oveja ocurre a una edad temprana (corderas que aún no han finalizado su crecimiento), inevitablemente existe un desafío metabólico adicional debido a la competencia entre madre y feto por los nutrientes, lo que incrementa el riesgo de déficit energético y de nutrientes indispensables para un adecuado crecimiento de la oveja y el buen desarrollo fetal, lo que causaría un menor peso al nacimiento (Luther *et al.* 2007). Por otro lado, en rumiantes lecheros, de más de un parto, por lo general las primeras etapas de desarrollo fetal coinciden con el pico de producción de leche de la lactación (Swali y Wathes, 2006; Swali y Wathes, 2007; González-Recio *et al.* 2012). En esta situación, las demandas de nutrientes del feto, en particular glucosa y proteína, compiten con las de la glándula mamaria (Swali y Wathes, 2006; Swali y Wathes, 2007) y por lo tanto afectan al peso al nacimiento (Swali y Wathes, 2006; Kamal *et al.* 2014). Swali y Wathes (2006), reportaron una relación entre el alto nivel productivo de leche



en vacas de tres o más lactaciones (parto  $\geq 3$ ), con una alta probabilidad de parir terneras de bajo peso, pero sin que este bajo peso tenga un efecto adverso sobre la productividad o la fertilidad en la primera lactación. Mientras que, otros estudios sugieren que cuando mayor es el nivel productivo de la vaca durante la primeras etapas de gestación, el potencial productivo y la longevidad de su descendencia se verá deteriorada (González-Recio *et al.* 2012).

#### 2.3.3.4 Otros factores individuales

No solo el desafío metabólico, el ambiente uterino durante las fases embrionarias y fetales, o el crecimiento uterino, son susceptibles de afectar a la producción de leche; existen otros factores que también pueden influir en la misma, como son número de parto (Pollott y Gootwine, 2004), edad, raza, tipo de gestación, estado sanitario (Pollott y Gootwine, 2004; Elvira *et al.* 2013b; Abecia y Palacios, 2018). La edad de los rumiantes lecheros determina el nivel de producción, ya que el rendimiento aumenta con la edad del animal debido a que su estado tanto metabólico como hormonal son más eficientes, así como también son capaces de almacenar energía en sus reservas corporales. En ovejas lecheras, la primera lactación tiene un menor rendimiento en comparación con las segundas y terceras lactaciones que son las más productivas. Sin embargo, cuando las lactaciones son  $\geq 4$  la productividad de la oveja disminuye (Selvaggi *et al.* 2017). A pesar de esto, en ovejas lecheras de raza Lacaune, nuestro grupo ha observado que la lactación más productiva es la primera, al menos en condiciones intensivas de producción (Elvira *et al.* 2013a).

El sexo de la descendencia también puede afectar el rendimiento en la siguiente lactación tanto en vacas (Hinde *et al.* 2014; Hess *et al.* 2016; Græsbøll *et al.* 2015; Gillespie *et al.* 2017), como en ovejas lecheras (Abecia y Palacios, 2018). Hinde *et al.* (2014) informaron que las vacas de primer parto que parieron una ternera hembra eran las que produjeron más en una lactación ajustada a 305 días en comparación con las vacas que parieron un ternero; además, este efecto del sexo del feto gestado durante la primera lactación continua durante la

segunda lactación (Hess *et al.* 2016; Gillespie *et al.* 2017). Contrariamente, Græsbøll *et al.* (2015) señala que la producción en la primera lactación es significativamente mayor en vacas que parieron un ternero. En ovejas lecheras que paren una cordera hembra producen más que aquellas ovejas que paren corderos (Abecia y Palacios, 2018). Sin embargo, este efecto estuvo ausente en otros estudios (Ayadi *et al.* 2014). Las vías por las cuales el sexo del feto influye en el desarrollo de la glándula mamaria siguen siendo aún desconocidas (Hinde *et al.* 2014).

### **3 PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL**

En el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se llevaron a cabo dos experimentos en una granja comercial de producción intensiva de leche.

El primer estudio, que se corresponde con el primer objetivo específico y se desarrolla en el estudio I de la presente Memoria, tenía como objetivo determinar la eficiencia de un sistema de manejo reproductivo intensivo con 10 parideras al año (es decir, parideras prácticamente continuas) y su relación con la productividad y bienestar de la granja.

El segundo estudio, que se corresponde con los objetivos generales del segundo al quinto y se desarrolla en el estudio II de la presente Memoria, contempló el estudio de la influencia de factores maternos, incluido el propio nivel productivo, sobre la oveja y sobre su descendencia.

### 3.1 Granja y características de manejo globales

El desarrollo experimental se realizó en una única granja comercial (“Granja Cerromonte”; San Juan de la Encinilla, Ávila, España, clima continental, latitud 40°90', altitud 900 m), sobre ovejas de raza Elite Lacaune en condiciones de sistema intensivo de producción. El rebaño original se importó entre 2005 y 2006 de la Asociación Francesa Lacaune (Upra Lacaune Región de Aveyron). La granja consta de un rebaño con un tamaño medio de  $4.170 \pm 250$  animales. Todas las ovejas se alojan dentro de patios cubiertos, pero expuestos a las condiciones naturales de fotoperiodo y termoperiodo, y son sometidas diariamente a supervisión veterinaria para asegurar un estado de salud adecuado. La alimentación se suministra de acuerdo al nivel de producción y se basa en un sistema de ración total mezclada o *total mixed ration system* por sus siglas en inglés (TMRS). Esta ración contiene maíz, soja, pulpa de remolacha deshidratada alfalfa, ensilado de centeno y bagazo de destilería, con alguna variación leve de su composición según disponibilidad de materias primas. Las ovejas se ordeñan dos veces al día y los corderos se destetan el día del nacimiento y se crían con lactancia artificial desde el momento del parto hasta aproximadamente 10 kg de peso vivo; peso que alcanzan entre los 18–28 días después del nacimiento.

### *Manejo reproductivo*

La gestación se diagnostica mediante ecografía transabdominal entre los 35–60 días posteriores a la monta. La edad media al primer parto es de  $411 \pm 57$  días (13,7 meses). Las ovejas se reintroducen en reproducción a los 50–140 días postparto. Desde el primer día después del parto, las ovejas se ordeñan dos veces al día, sin amamantamiento del cordero como ya se ha descrito, y el ordeño se efectúa de manera continua hasta el momento en que la producción es menor de 0,5 l/día o hasta el día 30 antes del próximo parto si no se produce este descenso, momento en el que se secan.

Los registros de datos productivos y reproductivos se recogen, almacenan y validan utilizando el software Alpro para Windows (DeLaval, Tumba, Suecia). Los registros de lactación incluían fechas de nacimiento, de parto, de secado y de desecho, orden de lactación, producción total/lactación y causa de desecho. Las lactaciones fueron asignadas al año en el que comenzaron (fecha de parto), independientemente del año en la que terminaron. Según el objetivo del experimento se calcularon diferentes índices para el estudio concreto.

## 3.2 Diseño de los experimentos

### 3.2.1 Estudio I. Comparación de dos sistemas de gestión reproductiva intensiva ovina y su asociación con los parámetros productivos, reproductivos y evolución de la población animal en una granja intensiva de producción de leche.

En este estudio se aborda un análisis observacional, retrospectivo, de cohortes subsiguientes que incluyó los datos reproductivos y productivos de la totalidad del rebaño entre los años 2010 y 2015, inclusive, para la comparación de la eficiencia productiva de dos estrategias de manejo reproductivos diferentes, que se realizaron de forma sucesiva.

Estas estrategias consistían en un programa reproductivo de 5 parideras/año (5–PP) y en otro de 10 parideras/año (10–PP), basadas en índices reproductivos

individuales de 1,3 partos por oveja y año y una prolificidad media de 1,6 corderos.

El sistema 5–PP se implementó durante los años 2010 al 2012 y consistió en cinco parideras/año, con una duración aproximada de un mes cada una de ellas; las fechas concretas de comienzo de los partos en cada una de las parideras fueron: 19 de enero, 30 de marzo, 13 de junio, 25 de agosto y 6 de noviembre. Este sistema -en base al número de ovejas totales y fertilidad y prolificidad medias- tenía como objetivo obtener 800–1.000 partos, con aproximadamente 1.480 corderos, por paridera (Figura 28). La carga de trabajo prevista para la implementación del sistema 5–PP fue de tres empleados a tiempo completo; cada uno responsable de la atención de aproximadamente 500 corderos recién nacidos/persona y paridera.

El sistema 10–PP se implementó durante los años 2014 y 2015 (siendo el 2013 utilizado para la transición de un sistema a otro) y consistió en diez parideras/año, con una duración aproximada de 28 días cada una de ellas; las fechas concretas de comienzo de los partos en cada una de las parideras fueron: 26 de enero, 23 de febrero, 23 de marzo, 20 de abril, 8 de mayo, 15 de junio, 24 de agosto, 21 de septiembre, 19 de octubre y 16 de noviembre. El mes de agosto y diciembre no se programaron parideras por ser meses vacacionales. Este sistema -en base al censo de ovejas y su fertilidad y prolificidad medias- tenía como objetivo obtener 400–600 partos, con aproximadamente 810 corderos por paridera (Figura 28). La carga de trabajo prevista para la implementación del sistema 10–PP fue de dos trabajadores a tiempo completo, cada uno responsable del cuidado de aproximadamente 400 corderos recién nacidos/persona y paridera.

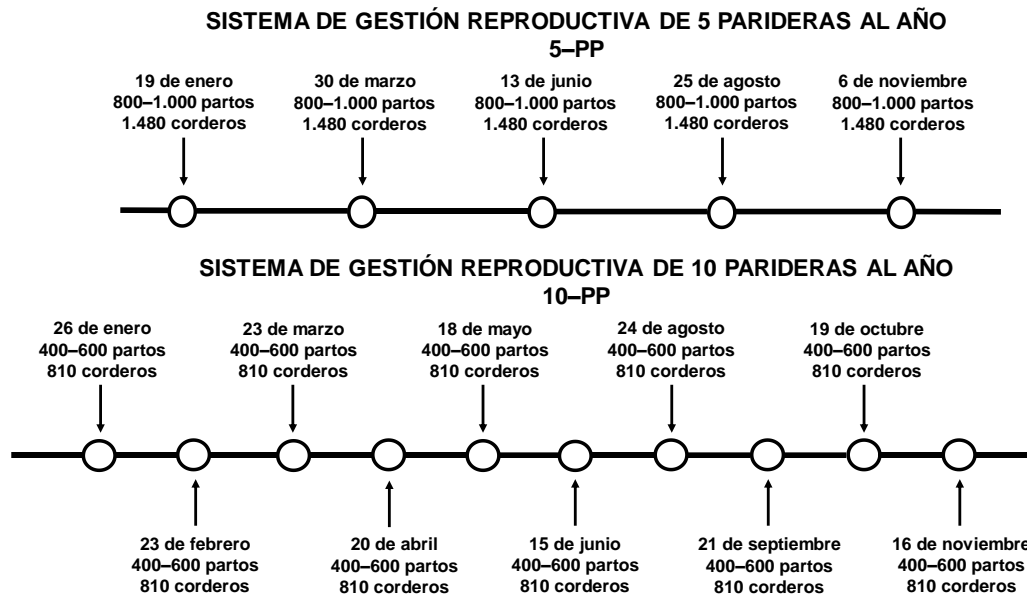


Figura 28. Parideras programadas, número de animales y distribución a lo largo del año durante dos sistemas de gestión reproductiva diferente: 5-PP (cinco parideras/año) y 10-PP (10 parideras/año) en una granja intensiva de ovejas Lacaune de leche.

### 3.2.1.1 Registro de datos y parámetros calculados

En el periodo comprendido entre los años 2009 y 2015 se llevó a cabo el registro de 27.880 lactaciones, correspondientes a los datos productivos y reproductivos recopilados de una media anual de 3.746 ovejas; en cada oveja, las lactaciones registradas se agruparon en base al número de lactación (1 a 11). Durante los años 2010 a 2012 (implementación del sistema 5-PP) se registraron 11.250 lactaciones, a partir de un promedio de 3.580 ovejas/año. Durante los años 2014 a 2015 (sistema 10-PP) se registraron los datos de 7.341 lactaciones, correspondientes a un promedio de 4.051 ovejas/año.

Las lactaciones fueron asignadas al año en que comenzaron (fecha de parto) independientemente al año en el que terminaron y, para su estudio, se clasificaron según los siguientes criterios:

- Orden de lactación, de la primera a la undécima (1–11)
- Existencia o no de un aborto:

- Lactación posterior a un aborto (LPA): lactación que se realizó tras un aborto.
- Lactación posterior a una lactación con aborto (LPPA).
- Lactación normal (LNA): lactación normal que es posterior a una lactación sin aborto.
- Productividad:
  - Lactación productiva (LP): lactación con más de 120 días en leche (DEL) y más de 100 litros/lactación.
  - Lactación no productiva (LNP): lo contrario a los criterios previos (<100 l/lactación o <120 días en leche).
- Duración de la lactación:
  - Lactación de longitud extremadamente larga (LXL): lactación con más de 350 DEL.
  - Lactación de longitud normal (LLN): lactación con menos de 350.

En base a los registros brutos se calcularon los siguientes parámetros productivos:

- Producción total/lactación, en litros (PTL; MY por sus siglas en inglés, *Milk Yield/lactation*).
- Producción diaria, en litros (PDL; YDIM por sus siglas en inglés, *Daily Milk Yield*).
- Duración de la lactación, en días (DL; LL por sus siglas en inglés, *Lactation Length*).
- Duración del periodo seco, en días (DPS; DPL por sus siglas en inglés, *Dry Period Length*).
- Intervalo entre partos previo, en días (IP-P; ILI-P por sus siglas en inglés, *Previous Interlambing Interval*).
- Intervalo entre partos de la lactación actual, en días (IP-A; ILI por sus siglas en inglés, *Interlambing Interval of the current lactation*).
- Duración del periodo seco previo o antes de la lactación actual, en días (DPS-P; DPL-P por sus siglas en inglés, *Previous Dry Period Length, before the current lactation*).



Los parámetros demográficos y productivos de la granja analizados fueron los siguientes:

- Ovejas/año (n)
- Lactaciones/año (n)
- Ovejas incluidas en el estudio/año (n)
- Producción/oveja/año (l)
- Partos/oveja/año (n)
- Prolificidad, corderos/parto/año (n)
- Corderos/oveja/año (n)
- Ovejas/descarte/año (%)
- Ovejas/descarte/año (n/N)
- Ovejas/ordeñadas/año (%)
- Corderos/vivos/año (n)
- Mortalidad/corderos/año (%)
- Mortalidad/corderos/año (n/N)

El análisis de las 27.880 lactaciones registradas conllevó la eliminación de 465 lactaciones (1,67% del total), por inconsistencia de los datos almacenados; concretamente, por inconsistencias entre fechas de parto y secado (76 lactaciones); lactaciones de duración extremadamente larga con un intervalo entre parto mayor a 450 días, presumiblemente debido a la falta de fecha del siguiente parto (320 lactaciones) y lactaciones con cero litros de producción de leche, pero con más de 20 días en lactación (69 lactaciones).

### 3.2.1.2 Procesado y análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SPSS® 22 (IBM, Nueva York, EE.UU.). Los datos presentados en tablas se expresaron como valores medios  $\pm$  desviación estándar y error estándar de la media y los datos de las figuras se expresaron como valores medios  $\pm$  error estándar de la media. El orden de lactación se incluyó como factor fijo en el modelo. Las diferencias entre los resultados de los dos periodos de gestión reproductiva se evaluaron para

determinar su importancia mediante un análisis de varianza (ANOVA) corregido para determinar la homogeneidad de la varianza mediante test de Bonferroni y test post hoc de Duncan. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a partir de  $P < 0,05$ .

### 3.2.2 Estudio II. Influencia de factores maternos sobre diferentes aspectos productivos y metabólicos de la propia oveja y su descendencia.

Este segundo bloque abordó un estudio observacional, prospectivo, aleatorio y basado en dos cohortes (Figura 29). Cada cohorte fue elegida para estudiar dos parideras en diferente época del año, incluyendo tanto ovejas adultas (multíparas) como corderas (nulíparas, que tras el parto serían primíparas). La primera cohorte fue la paridera de abril–mayo 2016 y la segunda cohorte la de diciembre del mismo año. El manejo reproductivo corresponde al descrito anteriormente, con un ritmo reproductivo en sistema 10–PP. La selección de las ovejas se llevó a cabo mediante un diagnóstico de gestación temprano realizado entre 25–35 días después de la introducción de los machos, con lo que se consideraron ovejas en un rango de gestación de aproximadamente 30 días y se descartaron ovejas con un periodo de gestación menor al límite de detección de ecografía. Además, se identificó el tipo de gestación (simple o múltiple). Esta información fue posteriormente corroborada en el momento del parto.

En total, el estudio incluyó 527 ovejas gestantes, 285 adultas y 242 corderas. Durante el estudio se descartaron 34 ovejas de la primera cohorte y 67 de la segunda cohorte, por las siguientes causas: 8 muertes, 3 abortos, 7 ovejas no gestantes previamente dadas por gestantes, 3 con parto después de la fecha prevista, y 80 ovejas de las que no se pudo identificar sus corderos al parto. Asimismo, el porcentaje de corderos muertos a los  $17 \pm 5$  días de edad, fue 5,82% (34/584).

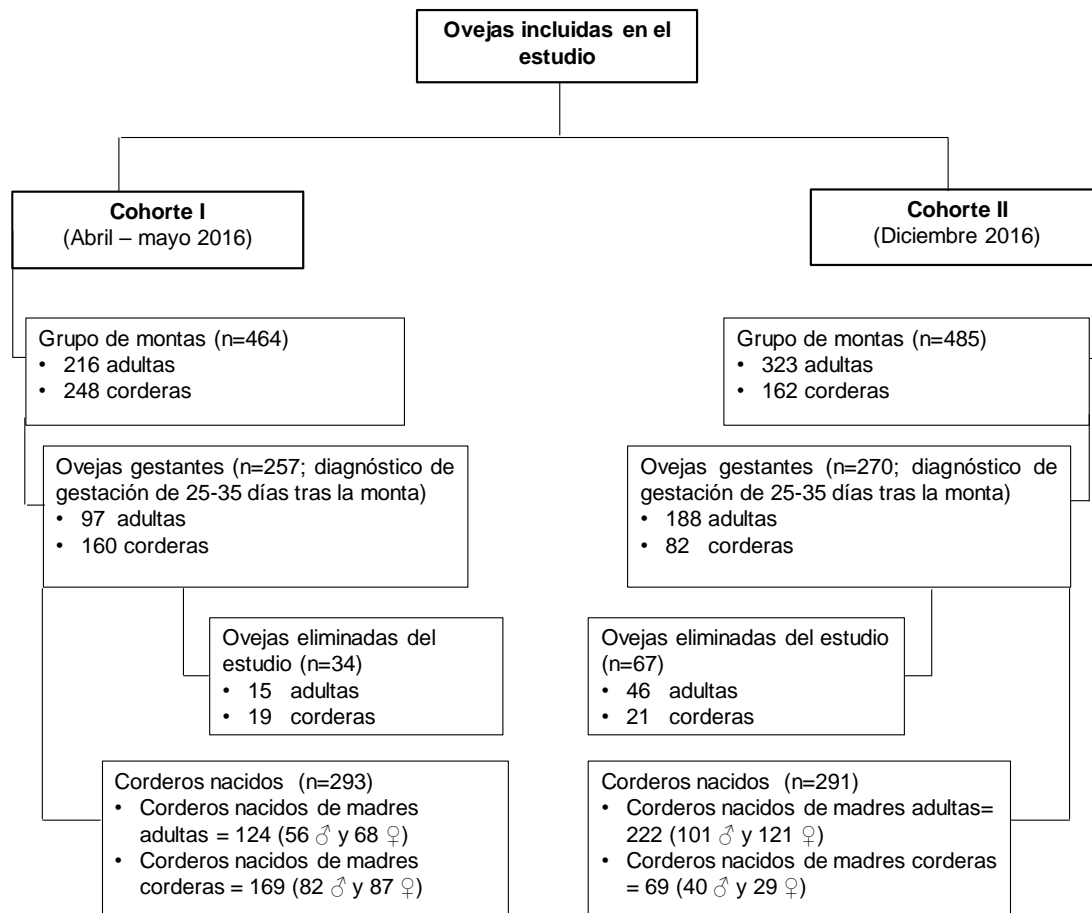


Figura 29. Esquema de los animales incluidos y eliminados, y las cohortes estudiadas en una granja de ovejas lecheras de raza Lacaune de alta producción en sistema intensivo.

### 3.2.2.1 Muestreos, medidas y determinaciones laboratoriales

En ambas cohortes, las ovejas incluidas en el estudio se muestrearon en dos momentos diferentes de la gestación, a mitad ( $75 \pm 5$  días de gestación) y a final ( $142 \pm 4$  días de gestación), y posteriormente en el postparto ( $52 \pm 5$  días después del parto; Figura 30). En cada muestreo se registró el peso y la condición corporal y se tomó una muestra de sangre previo ayuno de cada animal. El peso se registró individualmente utilizando una balanza electrónica (TRU-TEST, Nueva Zelanda) mientras que la condición corporal (CC), se determinó, de forma independiente por dos evaluadores que siempre fueron los mismos, sobre la escala de clasificación de 5 puntos establecida por Russel *et al.* (1969), donde CC=1 corresponde a ovejas extremadamente delgadas y

CC=5 a animales muy gordos. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de vena yugular mediante un sistema de tubos al vacío impregnados con EDTA (Vacutainer® System Europe; Becton Dickinson, Meylan, Francia); las muestras se centrifugaron inmediatamente a 3.500 rpm durante 12 min y se almacenaron en viales de polipropileno a  $-80^{\circ}\text{C}$ . En ellas, mediante un analizador de química clínica (Saturno 300 plus, Crony Instruments s.r.l., Roma, Italia), se analizaron los siguientes parámetros bioquímicos indicadores del metabolismo glucídico, proteico y lipídico: glucosa (mg/dl), lactato (mg/dl), colesterol (mg/dl), triglicéridos (mg/dl),  $\beta$ -hidroxibutirato (mmol/l) (por sus siglas en inglés  *$\beta$ -hydroxybutyrate*  $\beta$ HB), ácidos grasos no esterificados (mmol/l) (por sus siglas en inglés *non-esterified fatty acids* NEFA) y urea (mg/dl).

Los corderos, en el momento del nacimiento, fueron crotalados para su identificación, sexados, pesados y medidos (longitud corporal). A los  $17 \pm 5$  días de edad, los corderos fueron nuevamente pesados y medidos y se les tomó una muestra de sangre para la determinación de los parámetros bioquímicos descritos anteriormente. Las medidas determinadas en el segundo momento fueron la longitud del cuerpo y las circunferencias torácica y abdominal. Los valores de medida y peso corporal se utilizaron para el cálculo del Índice de Masa Corporal al nacimiento (IMC-1) y a los 17 días (IMC-2) utilizando la formula  $[\text{peso (kg)}/\text{longitud (m)}^2]$ , descrita por Goodman *et al.* (2000).

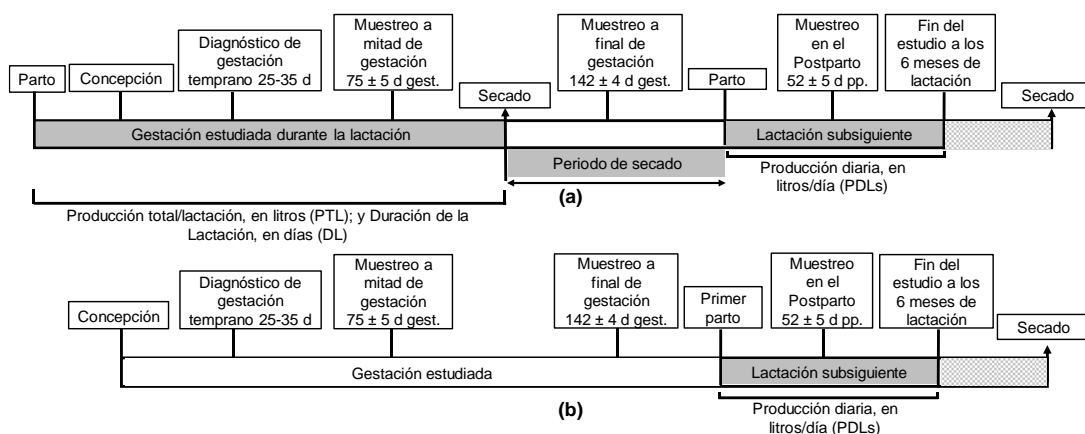


Figura 30. Seguimiento, datos registrados y muestreos realizados sobre las ovejas adultas gestantes (panel a) y sobre corderas gestantes (panel b) incluidas en el estudio

en una granja de ovejas lecheras de raza Lacaune de alta producción en sistema intensivo.

### 3.2.2.2 Estructura en bloques de estudio II

Para simplificar la estructura del estudio II, fue dividido en dos bloques de estudio que abarcan los diferentes objetivos específicos descritos en la presente Memoria.

Así, un primer bloque incluyó, el estudio de la influencia de los factores maternos (edad, tipo de gestación y CC) sobre el perfil metabólico y la evolución de la CC de las propias ovejas y su descendencia (objetivo específico 2). Estos resultados han sido publicados en la revista ANIMALS, 2019 28;9(4), E122; doi: <https://doi.org/10.3390/ani9040122>

Por otro lado, el segundo bloque incluyó la evaluación del efecto del nivel de producción de las ovejas sobre ellas mismas y su descendencia (objetivo específico 3), y la, determinación de los factores maternos y de la descendencia que afectan a la producción subsiguiente a la gestación estudiada (objetivos específicos 4 y 5). Estos resultados han sido publicados en la revista ANIMALS, 2019 30;9(6), E295; <https://doi.org/10.3390/ani9060295>

### 3.2.2.3 Registro de datos y parámetros calculados

En el estudio de los datos es importante resaltar la diferencia entre lactación estudiada y lactación subsiguiente (caracterizada con un subíndice “s” de subsiguiente para diferenciarla de la lactación estudiada; Figura 30). Es importante tener en cuenta también que las corderas sólo producen leche en la lactación posterior al parto; es decir, subsiguiente.

Los parámetros calculados en base a los registros brutos obtenidos en el programa de granja, ya descritos previamente en este manuscrito, fueron:

- Parámetros recogidos de la lactación estudiada
  - Duración de la lactación, en días (DL; LL por sus siglas en inglés, *Lactation Length*).

- Producción total/lactación, en litros (PTL; TMY por sus siglas en inglés, *Total Milk Yield/lactation*).
- Producción diaria/lactación, en litros/día (PDLt; YDIMt por sus siglas en inglés, *Yield per Day in Milk during the whole studied lactation*)
- Producción diaria antes de la concepción, en litros/día (PDLa; YDIMb por sus siglas en inglés, *Yield per Day in Milk before conception*)
- Producción diaria durante el mes de concepción, en litros/día (PDLc; YDIMc por sus siglas en inglés, *Yield per Day in Milk during the month of conception*).
- Producción diaria durante el segundo mes de concepción, en litros/día (*Yield per Day in Milk during the second month of pregnancy*)
- Producción diaria durante el tercer mes de concepción, en litros/día (*Yield per Day in Milk during the third month of pregnancy*)
- Producción diaria desde la concepción hasta el secado, en litros/día (PDL; YDIM por sus siglas en inglés, *Yield per Day in Milk from conception to drying off*)
- Duración del periodo seco, en días (DPS; DLP por sus siglas en inglés, *Dry Period Length*).
- Parámetros recogidos de la lactación subsiguiente
  - Duración de la lactación posterior a la lactación estudiada, en días (DLs; LLs por sus siglas en inglés, *Lactation Length subsequent lactation*).
  - Producción total/lactación posterior a la lactación estudiada, en litros (PTLs; TMYs por sus siglas en inglés, *Total Milk Yield/lactation*).
  - Producción diaria de leche después del parto durante los primeros seis meses de producción de la lactación posterior a la lactación estudiada, en litros/día (PDLs; YDIMs por sus siglas en inglés,

*Yield per Day in Milk during the first 6 months of the subsequent lactation).*

- Producción diaria/lactación posterior a la lactación estudiada, en litros/día (PDLts; YDIMts por sus siglas en inglés, *Yield per Day in Milk during the whole subsequent lactation*).
- Duración del periodo seco posterior a la lactación estudiada, en días (DPSS; DLPs por sus siglas en inglés, *Dry period length after the subsequent lactation*).

En el primer bloque (objetivo específico 2), las ovejas se clasificaron para su estudio en función de los siguientes criterios.

- Tipo de gestación: simple vs. múltiple
- Edad: oveja adulta vs. cordera
- Condición corporal (CC) determinada a mitad y final de gestación (CC–1 y CC–2, respectivamente) y en el postparto (CC–3). En base a la CC en cada momento los animales se categorizaron en tres grupos: delgadas ( $CC \leq 2$ ); CC–media ( $2 < CC < 3$ ) y obesas ( $CC \geq 3$ ).

Los corderos se clasificaron según los siguientes criterios:

- Sexo: macho vs. hembra
- Sexo del hermano/a (en partos múltiples).
  - Hermanos macho y hembra
  - Hermano(s) macho (del mismo sexo que el cordero estudiado).
  - Hermano(s) hembra (del mismo sexo que la cordera estudiada).
- Peso del cordero al nacimiento:
  - Peso normal:  $> 3$  kg
  - Corderos con bajo peso:  $\leq 3$  kg (equivalente a una desviación estándar por debajo del peso al nacimiento medio de la población).

En el segundo bloque (objetivos específicos 3 al 5) las ovejas adultas se clasificaron en función del nivel de producción durante la lactación concomitante

con la gestación (lactación estudiada) determinada con diferentes parámetros productivos.

- Producción total/lactación, en litros (PTL).
  - Producción baja, B–PTL;  $< 220$  l
  - Producción media, M–PTL;  $220$  a  $< 371$  l
  - Producción alta, A–PTL;  $> 371$  l
- Producción diaria desde la concepción hasta el secado, en litros/día (PDL).
  - Producción baja, B–PDL;  $< 0,77$  l/d
  - Producción media, M–PDL;  $0,77$  a  $< 1,12$  l/d
  - Producción alta, A–PDL;  $> 1,12$  l/d
- Producción diaria durante el mes de concepción, en litros/día (PDLc).
  - Producción baja, B–PDLc;  $< 0,9$  l/d
  - Producción media, M–PDLc;  $0,9$  a  $< 1,35$  l/d
  - Producción alta, A–PDLc;  $> 1,35$  l/d

Para el estudio de la influencia de las características maternas durante la gestación sobre el rendimiento de leche durante la lactación posterior al parto (“lactación subsiguiente”, cuyos datos caracterizamos con un subíndice “s” de subsiguiente), las ovejas adultas y corderas (Figura 30) fueron categorizadas de acuerdo a:

- Producción diaria de leche después del parto durante los primeros seis meses de producción de la lactación posterior a la lactación estudiada, en litros/día (PTLs)
  - Producción baja, B–PDLs;  $< 1,57$  l/d
  - Producción media, M–PDLs;  $1,57$  a  $< 2,19$  l/d
  - Producción alta, A–PTDs;  $> 2,19$  l/d

#### 3.2.2.4 Procesado y análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SPSS® 22 (IBM, Nueva York, EE.UU.). Los cambios a lo largo del tiempo de peso, CC, IMC, longitud e



índices metabólicos de las ovejas y corderos se analizaron mediante análisis de varianza de medidas repetidas (GLM ANOVA). Para determinar las diferencias entre grupos en cada momento de muestreo se utilizó un test no paramétrico de Kruskal-Wallis o Mann-Whitney (puesto que los datos no siguieron una distribución normal). Asimismo, se evaluaron las diferencias entre grupos de las circunferencias torácica y abdominal, la ganancia media diaria de peso y los índices metabólicos de corderos mediante un test T-student. La relación entre variables de la misma oveja o la relación del peso al nacimiento del cordero con los índices metabólicos de la madre fueron valoradas mediante un análisis de correlación de Pearson. Los datos presentados en tablas se expresaron como valores medios  $\pm$  desviación estándar y los datos de las figuras se expresaron como valores medios  $\pm$  error estándar de la media. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a partir de  $P < 0,05$ . Las diferencias asociadas a un valor de  $P$  entre 0,05 y 0,09 se definieron como tendencias.

## 4 RESULTADOS

4.2 Estudio I: Comparación de dos sistemas de gestión reproductiva intensiva ovina y su asociación con los parámetros productivos, reproductivos y evolución de la población animal en una granja intensiva de producción de leche.

4.2.1 Características productivas y evolución de la población ovina en una granja comercial de producción intensiva de leche durante la implementación de dos sistemas de gestión reproductiva intensiva: cinco parideras o diez parideras por año.

Este estudio ha sido publicado en diciembre de 2017

Efficiency and demographics of a high-yield dairy ewe farm with two managing systems involving five or 10 lambings per year.

José Luis Pesántez Pacheco, Laura Torres Rovira, Fernando Hernández, María Victoria Sanz Fernández, Natividad Pérez Villalobos, Ana Heras Molina, Consolación García Contreras, Marta Vázquez Gómez, Paula Martínez Ros, Juan Vicente González Martín, Antonio González Bulnes y Susana Astiz.

Animal, 2018. 12 (10); 2181-2190. doi 10.1017/S175173111700369X.

#### 4.2.1.1 Resumen

El estudio buscaba valorar si la implementación de un ritmo reproductivo más intensivo, con más parideras/año, distribuye de manera equitativa la carga de trabajo a lo largo de todo el año, sin consecuencias negativas sobre la productividad de la granja. Para ello se evaluó la eficiencia productiva, las características demográficas y la distribución de la carga de trabajo.

El análisis de un total de 27.415 lactaciones completas mostró que la media de producción total/lactación fue de  $342 \pm 184$  l; la media de producción diaria fue de  $1,75 \pm 1,9$  l/d/oveja, la duración de la lactación fue de  $192 \pm 83$  días, la media de duración del periodo seco fue de  $62,9 \pm 37,2$  días y el intervalo entre partos fue de  $287 \pm 48,3$  días. En estas lactaciones, 7.425 eran primeras; 6.035 segundas; 4.890 terceras; 3.719 cuartas y 2.603 quintas; el resto correspondieron a sextas lactaciones o más.

En cuanto al orden de lactación, las más productivas fueron las primeras lactaciones. Así, las lactaciones de primer hasta cuarto orden mostraron similares producciones entre ellas, pero significativamente más productivas que las lactaciones de orden superior ( $P<0,0001$ ). Así mismo, las primeras seis lactaciones mostraron producciones diarias semejantes y fueron estadísticamente superiores a las lactaciones posteriores ( $P<0,0001$ ). La duración de lactación fue similar entre las lactaciones de primer hasta cuarto orden, y tuvieron una mayor longitud de lactación que aquellas de orden superior ( $P<0,0001$ ). Por el contrario, no se encontraron diferencias entre los diferentes órdenes de lactación con relación a la duración del periodo seco.

En cuanto a la comparativa entre los dos sistemas reproductivos, varios parámetros de productividad fueron mejores con el sistema 10-PP que con el sistema 5-PP. El sistema de 10-PP mostró un ligero incremento numérico en la producción anual por oveja ( $437 \pm 219$  vs.  $428 \pm 264$  l/oveja/año), aunque la diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa. Por el contrario, sí se encontraron diferencias significativas a favor del sistema 10-PP en producción total/lactación ( $370 \pm 156$  vs.  $349 \pm 185$  l en 5-PP;  $P<0,0001$ ), longitud de lactación ( $218 \pm 75$  vs.  $192 \pm 75$  días en 5-PP;  $P<0,0001$ ) y longitud del periodo seco ( $53,5 \pm 38,3$  vs.  $69,1 \pm 34,8$  días en 5-PP;  $P<0,0001$ ). Por el contrario, el intervalo parto-parto fue más largo en 10-PP ( $302 \pm 44$  vs.  $283 \pm 50$  días en 5-PP;  $P<0,0001$ ). El porcentaje de lactaciones con aborto fue similar en ambos sistemas ( $0,4$  vs.  $0,6\%$  para 5-PP y 10-PP respectivamente;  $P>0,05$ ). Sin embargo, el sistema de 5-PP coincidió con más lactaciones improductivas ( $14,3$  vs.  $8,4\%$ ;  $P<0,0001$ ).

En resumen, no se encontró ningún efecto negativo sobre los parámetros productivos por el hecho de implementar un sistema de 10-PP y sólo se observó una cantidad menor de partos/oveja/año ( $1,30 \pm 0,01$  vs.  $1,42 \pm 0,01$  cordero/oveja/año;  $P=0,03$ ), pero sin alterar la producción de corderos ( $1,60 \pm 0,1$  vs.  $1,69 \pm 0,8$  corderos/parto/año;  $P>0,05$ ).

Además, fue durante la implementación del sistema de 10–PP (2014–2015) que la inversión de una nueva instalación destinada para la lactancia de los corderos se hizo posible (lo que no hubiera sido factible económicamente con el sistema 5–PP, pues la carga de animales/día es del doble, con lo que la inversión hubiera sido también el doble). Por otro lado, con la estrategia 10–PP se logró una importante uniformidad de la carga de trabajo durante todo el año, una carga de trabajo por trabajador menor (354,5 corderos y 221,5 partos vs. 500,6 corderos y 296,6 partos/trabajador y paridera). Esta situación pudo haber ayudado a la importante reducción numérica de la mortalidad de los corderos en los diferentes periodos ( $24,57 \pm 20,4$  vs.  $32,71 \pm 9,5\%$ ;  $P>0,05$ ), a la menor tasa anual de eliminación de ovejas ( $35,39 \pm 0,5$  vs.  $42,51 \pm 7,5\%$  ovejas/descarte/año;  $P>0,05$ ) y por consiguiente mayor longevidad de éstas y un orden superior de lactaciones ( $P<0,0001$ ).

En definitiva, los resultados mostrados sugieren que la implementación de un sistema de manejo reproductivo más intensivo y novedoso de 10 parideras/año es compatible con la rentabilidad, la productividad y el bienestar de los trabajadores en una granja ovina lechera, de alta producción, en manejo intensivo.

4.2.1.2 Artículo original: doi 10.1017/S175173111700369X.



## Efficiency and demographics of a high-yield dairy ewe farm with two managing systems involving five or 10 lambings per year

J.-L. Pesantez-Pacheco<sup>1,2</sup>, L. Torres-Rovira<sup>1</sup>, F. Hernandez<sup>3</sup>, M. V. Sanz-Fernandez<sup>1</sup>, N. P. Villalobos<sup>4</sup>, A. Heras-Molina<sup>5</sup>, C. Garcia-Contreras<sup>1</sup>, M. Vazquez-Gomez<sup>5</sup>, P. Martinez-Ros<sup>6</sup>, J.-V. Gonzalez-Martin<sup>5,7</sup>, A. Gonzalez-Bulnes<sup>1</sup> and S. Astiz<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Reproduction, INIA, Avda. Pta. de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain; <sup>2</sup>School of Veterinary Medicine and Zootechnics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Cuenca, Avda. Doce de Octubre, 01020 Cuenca, Ecuador; <sup>3</sup>Granja Cerromonte SL, 05358 San Juan de la Encinilla, Ávila, Spain; <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Europea de Madrid, C/Tajo s/n, Villaviciosa de Odón, 28670 Madrid, Spain; <sup>5</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Complutense University of Madrid (UCM), Avda. Pta. de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain; <sup>6</sup>Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPITA), Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Tirant lo Blanc, 7. 46115 Alfara del Patriarca Valencia, Spain; <sup>7</sup>TRIALVET SL, C/ Encina 22, Cabanillas de la Sierra, 28721 Madrid, Spain

(Received 19 November 2017; Accepted 11 December 2017)

*This study assessed milk productivity, demographic characteristics and workload distribution on a single high-yield dairy ewe farm in Spain (Ávila, Spain; continental climate, latitude of 40.90° N, altitude of 900 m) over a 7-year period considering a transition from a herd management system involving five lambings per year (5LY) to a system involving 10 lambings per year (10LY). The 5LY system was practiced on the farm from 2010 to 2012 and the 10LY system from 2014 to 2015, with 2009 and 2013 being considered transition years. During this period, 27 415 lactations were recorded from an average of 3746 Lacaune sheep/year. Several productivity parameters were higher in 2014 to 2015 than in 2010 to 2012: milk yield/lactation ( $370 \pm 156$  v.  $349 \pm 185$  l), lactation length ( $218 \pm 75$  v.  $192 \pm 75$  days) and dry period length ( $53.5 \pm 38.3$  v.  $69.1 \pm 34.8$  days) (all  $P < 0.0001$ ). During 2014 to 2015, investment in new lambing facilities was possible, workload was distributed more uniformly throughout the year, workload per worker was smaller, rate of ewe culling was lower ( $35.39 \pm 0.53\%$  v.  $42.51 \pm 7.51\%$ ), ewe longevity was greater and higher-order lactations were more numerous ( $P < 0.0001$ ). On the other hand, during 2010 to 2012, daily production was higher ( $1.73 \pm 1.66$  v.  $1.70 \pm 0.62$  l/day;  $P = 0.038$ ), the interlambing period was shorter ( $283 \pm 50$  v.  $302 \pm 44$  days;  $P < 0.0001$ ) and lambings/ewe per year were greater ( $1.42 \pm 0.01$  v.  $1.30 \pm 0.01$ ;  $P < 0.05$ ). These results suggest that a 10LY herd management system can be compatible with profitability, productivity and good animal and worker's welfare on a high-yield dairy farm, and may even be associated with better outcomes than a 5LY system.*

**Keywords:** dairy Lacaune, accelerated lambing, intensive management, workload, animal welfare

### Implications

We track efficiency on an intensively managed farm of 4000 Lacaune dairy-ewes during 7 years in which the farm switched from a five lambings per year system (5LY) to a 10 lambings per year system (10LY). During the 10LY-period, workload/worker fell by 50%, workload distributed more evenly throughout the year, investment in facilities became possible, ewes showed longer productive life, and productivity was similar to that during the 5LY-period. Therefore, switching to a 10LY system does not necessarily cause losses of productivity or animal welfare and may even be

compatible with better human well-being and outcomes than less intensive management.

### Introduction

Sheep is a markedly seasonal species but farm practices can be optimized to increase several production parameters and thereby ensure a steady supply of meat and milk throughout the year (Lewis *et al.*, 1996). Increasing the numbers of lambings/ewe per year and lambings outside the reproductive season can be particularly profitable because higher prices can be charged on the market at these times (Caja and de Rancourt, 2002). Accelerated lambing systems involve breeding ewes more than once a year, which can be

<sup>†</sup> E-mail: astiz.susana@inia.es

Pesantez-Pacheco *et al.*

particularly effective with sheep that have already shown good out-of-season performance and long breeding seasons (Fogarty and Mulholland, 2013). Several accelerated sheep mating systems have also been developed at the flock level, including the Morlam system, which involves continuous exposure to rams (Iniguez *et al.*, 1986); twice-yearly lambing at 6-month intervals (Walton and Robertson, 1974; Duncan and Black, 1978); the Camal system, in which subflocks are successively mated at bimonthly intervals, potentially allowing lambings every 6, 8 or 10 months (Robinson, 1980; Iniguez *et al.*, 1986); accelerated 8-monthly lambing, allowing up to three lambings/ewe in 2 years (Notter and Copenhaver, 1980; Marai *et al.*, 2009; Zarkawi, 2011; Fogarty and Mulholland, 2013); a program of four lambings/ewe in 3 years (Menegatos *et al.*, 2006); or the START system involving up to five lambings/ewe in 3 years through five concurrent annual breeding and lambing seasons (Lewis *et al.*, 1996; DeNicolo *et al.*, 2008a and 2008b). The theoretical potential of accelerated systems is often not achieved because of seasonality (Lewis *et al.*, 1996); when these systems work well, they allow two to five labor-intensive lambing seasons during the year.

Dairy sheep production in Europe is relevant, with just 14.3% of the world dairy ovine population, but producing 29% of the world sheep milk. The European Union (EU) produces 93% of the European sheep milk, with an annual yield of 2 769 460 Tm, and Spain ranks third within the EU, producing 552.510 Tm/year (FAOSTAT, 2014). Regarding Spanish ovine breeds, from a total of ~1 300 000 breeders, 750 000 are sheep of foreign high producing breeds (mainly Assaf, Lacaune and crossbreeds; Ugarte *et al.*, 2001). Currently in Spain there is an official census of 47 497 full-blooded Lacaune breeders produced under intensive management conditions (MAPAMA, 2016).

In order to improve organization and management under intensive productive conditions, a high-yielding Lacaune dairy farm in Spain implemented a system of five lambing periods/year (5LY) (Hernandez *et al.*, 2011 and 2012; Elvira *et al.*, 2013a), similar to the START system. Although the system achieved the objective of 1.4 lambings/ewe per year, high mortality occurred among newborn lambs, presumably because the high lambing concentration overwhelmed the farm staff's ability to properly monitor lambs and ewes (own not published data). Lambings were concentrated in 5 months of the year, when workers had to care, each month, for more than 1440 newborn lambs from more than 900 lambings. During the remaining 7 months of the year, workers had a relatively light workload.

To distribute the workload more evenly over the year, this farm implemented a novel system of 10 lambing periods per year (10LY). The hypothesis of the study is that this more intensive reproductive rhythm with more lambing periods/year will redistribute the workload throughout the year more evenly, with probable no negative consequences on the productivity of the flock. Therefore, to demonstrate this, the present study examined efficiency, productivity and workload on this intensively managed dairy sheep farm during

a 7-year period covering when the 5LY and 10LY systems were in place, trying to determine whether a more intensive management system could be compatible with farm productivity, animal welfare, and rational workload distribution.

## Material and methods

### *Animals and management*

This observational study analyzed productive data from a dairy Lacaune herd of an average of  $3700 \pm 231$  adult ewes, managed in an intensive way during 2009 to 2015. A total of 27 415 lactations of 13 268 Lacaune sheep were recorded. The first lambing was recorded on 1 January 2009 and the last birth in the study occurred on 31 December 2015.

The ewes belonged to a single commercial Farm (Cerro-monte Farm, San Juan de la Encinilla, Avila, Spain; continental weather, latitude of 40.90 N, altitude of 900 m). The original flock had been imported between 2005 and 2006 from the French Lacaune Association (Upa Lacaune Region, Aveyron, France). All sheep were housed indoors but exposed to natural photo- and thermoperiods, and monitored for adequate health status and specific pathogens. They received unifeed mixtures (total mixed ration system) according to the sheep's production level. This ration contained corn, soybean, dried beet pulp, alfalfa, rye-silage and wet brewer's grain.

Ewes were milked twice a day and the lambs were raised completely artificially. Lambs were weaned at 10 kg of live weight at ~18 to 25 days after birth. Facilities did not change essentially during the study period, except that new lamb facilities were built in April 2014. From 2009 until then, lambs were housed indoors in eight pens (~150 lambs/pen) with a concrete floor and straw bedding. Automatic lamb feeders were used, and temperature was not controlled. From April 2014 until the end of the study period, newborn lambs were kept in a closed 'weaner unit' initially designed for piglets, with a total capacity of 960 newborn lambs, distributed in four sub-units comprising pens containing 60 lambs per pen. Pens featured automatic lamb feeders, slatted flooring, controlled temperature (minimum, 17°C; maximum, 27°C) and a separate ventilation system in each sub-unit. This facility, which cost ~€150 000 (US\$164 600) was sufficient for the 10LY system, which involved an average of 600 lambings per month and ~900 lambs per lambing period.

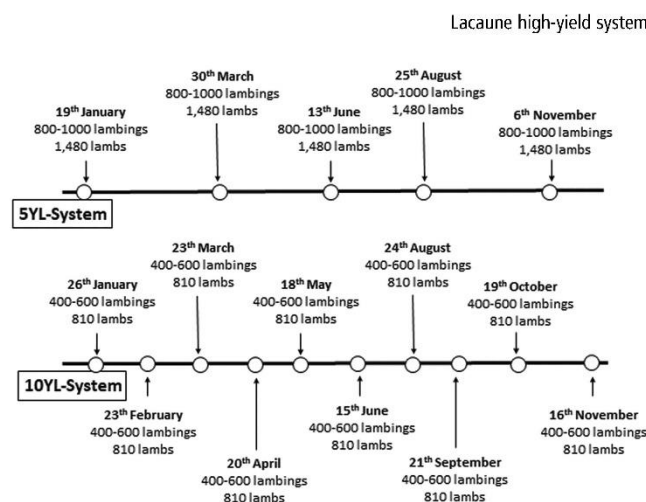
The average stay time for the lambs ranged from 18 to 25 days. Afterwards, rearing females and males were transferred to rearing pens, while male lambs were slaughtered.

The study did not include any experimental intervention on the animals, beyond the routine farming management practices that were in accordance with Spanish and European farming and animal welfare regulation.

### *Description of reproductive management systems*

Reproductive management with the 5LY and 10LY systems aimed at optimizing individual reproductive capacity to a minimum index of 1.3 lambings/ewe per year with a prolificacy of 1.6 over the study period. The 5LY system consisted of five lambing periods/year, each lasting ~1 month,





**Figure 1** Diagram outlining the different lambing periods during the year implemented during two different management system: 5LY (five lambing periods per year) and 10LY (10 lambing periods per year) on dairy sheep managed intensively on one large farm in Spain.

beginning on the following dates: 19 January, 30 March, 13 June, 25 August and 6 November. This system was implemented in 2010, 2011 and 2012. It was expected to result in ~800 to 1000 lambings and 1480 newborns per lambing period (Figure 1). Three full-time farm workers managed the lambing pens during 5LY implementation, with an expected ratio of 493 newborns per worker during each lambing period, and a total of 15 person-months needed, during 5 months throughout the year.

The 10LY system consisted of 10 lambing periods per year, each lasting 28 days and starting on 26 January, 23 February, 23 March, 20 April, 18 May, 15 June, 24 August, 21 September, 19 October and 16 November. (August and December were 'free' months to allow personnel holidays). This system was applied in 2014 and 2015. It was expected to result in ~400 to 600 lambings and 810 newborns per lambing period (Figure 1). Two full-time farm workers managed the lambing pens during 10LY implementation, with an expected ratio of 405 newborns per worker during each lambing period and a total of 20 person-months needed during 10 months throughout the year.

Individual reproductive management on this farm was as described (Elvira *et al.*, 2013a). In brief, the ewes and maiden sheep received a synchronization protocol based in the insertion of intravaginal progestogen-impregnated sponges (20 mg fluorogestone acetate, FGA; (Chronogest®, MSD AH, Boxmeer, the Netherlands)) for 14 days. On the day of sponge removal, sheep received 400 i.u. of eCG (Foligon®, MSD AH, Boxmeer, the Netherlands), then ewes were exposed to rams and natural mating was allowed for 25 days (5LY) or 28 days (10LY). The ratio of rams to ewes was 1 : 5 when ewes were synchronized with sponges and 1 : 20 when only the ram-effect was used. Ram fertility was checked individually by routine ram reproductive capacity test (libido, mounting capacity and sperm motility and concentration),

performed by the veterinarian of the farm at the beginning of each breeding season by each ram.

Pregnancy was diagnosed by transabdominal ultrasonography at 35 to 60 days post-mating. The mean age at first lambing was  $420 \pm 57$  days (13.8 months). The ewes were mated again ~50 to 140 days after lambing. From the day after lambing, ewes were milked twice a day, with no suckling period for lambs, and milking continued until production dropped below 0.5 l/day or until 30 days before the next lambing, when ewes were dried off.

#### Statistical analysis of results

The observation period was 2009 to 2015, inclusive, with 2009 and 2013 considered transition periods before implementation of each system. Lactations that occurred during these years were included in the first descriptive analysis of the farm during the study period.

Lactations that occurred during 2010 to 2012 (under the 5LY system) and 2014 to 2015 (under the 10LY system) were included in the quantitative analysis. This second analysis did not include lactations during the transition years 2009 or 2013 in order to gain a picture of the 'steady state' situation under each management system. Given the observational nature of our study, it was not possible for us to exclude the influence of time-dependent factors on similarities and differences observed between the period 2010 to 2012 under the 5LY system and the period 2014 to 2015 under the 10LY system. Thus, we could not attribute observed differences and similarities between the two periods specifically to the respective management systems.

Over the entire period of 2009 to 2015, 27 415 lactations from an average of 3746 Lacaune sheep/year were recorded, and lactation orders ranged from 1 to 11. During 2010 to 2012 (under the 5LY system), 11 250 lactations were recorded from

Pesantez-Pacheco *et al.*

an average of 3580 ewes/year; during 2014 to 2015 (under the 10LY system), 7341 lactations were recorded from an average of 4051 ewes/year.

Productive parameters and their distribution over time under each management system were recorded for different types of lactations. Lactations were stratified by

- order (1 to 11);
- abortion, with 'AL' used to classify lactations with abortion; 'AAL,' lactations after a lactation with abortion; and 'NAL,' lactations with no abortion, lactations with no abortion that also followed a lactation without abortion;
- productivity, with productive lactations (PL) defined as lactations with >120 days in milk (DIM) and >100 l/lactation, and other lactations defined as nonproductive (NPL);
- and length, with extremely long lactations (ELL) defined as >350 DIM and other lactations defined as normal length lactations (NLL).

Performance records were collected, stored and validated using on-farm Alpro Windows software (DeLaval, Tumba, Sweden). Lactation records included dates of birth, lambing, drying-off and culling. Lactations were assigned to the year in which they began, independently of when they ended. The following productive parameters were calculated: milk yield/lactation (MY); daily milk yield (YDIM); lactation length (LL in days); dry period length (DPL); previous interlambing interval (ILI-P); interlambing interval of the current lactation (ILI); and DPL-P, previous dry period length (before the current lactation). The following demographic parameters were calculated: ewes on farm/year (*n*); lactations/year (*n*); ewes included/year (*n*), restricted to ewes whose lactations were included in the study; yield/ewe per year (*l*); lambings/ewe per year (*n*); prolificacy, calculated as born lambs/lambing each year; lambs/ewe per year, referring to live lambs/ewe (*n*); culling rate (%); culled ewes/year (*n/N*); milked ewes/year (%); live lambs/year (*n*); lamb mortality/year (%); and lamb mortality/year (*n/N*).

Missing or obviously erroneous data were discarded, including 465 of 27 880 lactations (1.67%) because of inconsistency in recorded data. These inconsistencies were due to inconsistency between lambing and drying-off dates (76 lactations); unrealistically long lactations (320), probably because of failure to enter the date of the next lambing; and erroneous recording of null liters of milk production for more than 20 days (69 lactations).

Data were analyzed using SPSS 22.0 (IBM, New York, USA) by the Statistical Department of the Center for Research Support of Complutense University of Madrid, Spain. Data were expressed as mean values  $\pm$  SD and SEM values were included for each stratification of the data (in tables); and as mean values  $\pm$  SEM (in figures). Lactation order was included as a fixed factor in the model. Differences between the results from the two periods were assessed for significance using analysis of variance (ANOVA) corrected for variance homogeneity by Bonferroni test and *post hoc* Duncan test. The threshold of significance was defined as  $P < 0.05$ .

## Results

### *Demography and productivity during the whole studied period (2009 to 2015)*

Figure 2 shows demographic data on the sheep population and data on the total set of lactations as well as the subset of lactations included in the comparative analysis. The population increased slightly during the period with the 5LY system, then remained stable from 2013 to 2015, with the 10LY system. Prolificacy and lambings/ewe per year were also stable (Figure 2c). The culling rate of adult ewes decreased slightly with time (Figure 2d). Live lambs per ewe increased at the same time that lamb mortality steadily decreased (Figure 2e).

Over the entire study period, 27 415 lactations were recorded. Average milk yield per lactation was  $342 \pm 184$  l/lactation; average daily production per ewe,  $1.75 \pm 1.19$  l/day per ewe; lactation length,  $192 \pm 83$  days; average length of dry period,  $62.9 \pm 37.2$  days; and interlambing interval,  $287.0 \pm 48.3$  days.

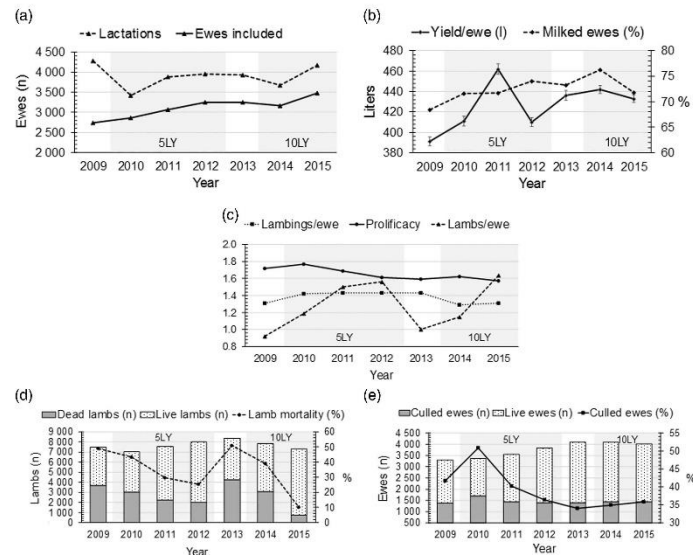
A total of 7425 lactations were first-order, 6035 second, 4890 third, 3719 fourth, and 2603 fifth. The remaining lactations were order  $\geq 6$ . The average productivity per lactation ranged from 0 to 1042 l/lactation. The most productive lactations were 1 to 4, which showed similar milk yield, which was significantly higher than that of later orders ( $P < 0.0001$ , Figure 3a). The six first lactations showed similar milk yield per lactation and daily milk yield, which were significantly higher than those of later lactations ( $P < 0.0001$ ; Figure 3b). Lactation length was similar among lactations 1 to 4, and it was significantly longer than later lactations (Figure 3c). Dry period did not differ significantly across lactation orders, although it was significantly longer for lactation 11 (130 days) than the average across all lactation orders (63 days,  $P < 0.0001$ , Figure 3d). This result should be interpreted cautiously since the dry period was recorded for only two lactations of order 11.

Table 1 summarizes other results obtained after stratifying lactations in different ways. Lactations after an abortion were less productive and involved a shorter dry period than lactations involving an abortion or normal lactation without an abortion. The dry period of a lactation before a lactation with abortion ( $79.65 \pm 46.31$  days) was significantly longer than the dry period of a lactation before a normal lactation ( $62.84 \pm 37.07$  days). Nonproductive lactations were less productive and shorter than productive lactations, and they involved a longer dry period. Extremely long lactations were associated with higher total milk yield, but lower daily production and longer interlambing interval.

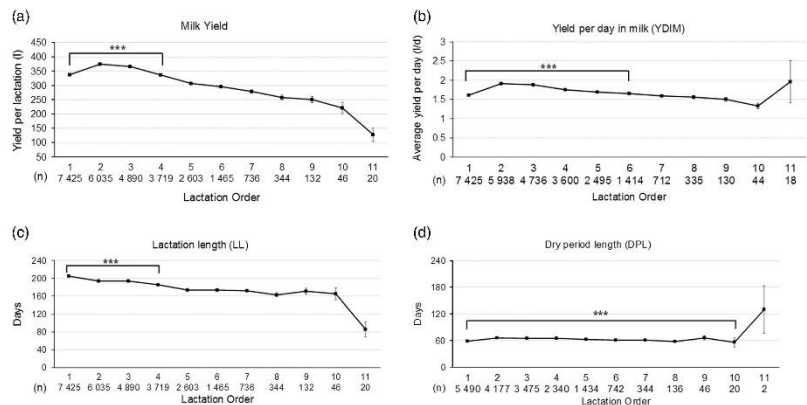
### *Comparison between 5LY (2010 to 2012) and 10LY (2014 to 2015)*

Table 2 summarizes productivity results during the earlier period featuring a 5LY management system and the later period featuring a 10LY system. Mean milk yield indices did significantly differ between both periods, with the latter period involving slightly higher total milk yield production, with shorter dry period lengths and longer lactations. The interlambing periods were longer when the 10LY system was implemented.

Lacaune high-yield system of 10-lambings/year



**Figure 2** Demographics and lactation data on dairy sheep managed intensively on one large farm in Spain, 2009 to 2015. Lactations and ewes included in the study (a); Average yield per ewe per year and total of milked ewes (b); Lambings per ewe per year, average prolificacy and average of lambs per ewe (c); Total of dead and live lambs, and lamb mortality (d); Total of culled and live ewes and annual culling rate (e). Shaded areas indicate years when the 5LY or 10LY management systems were implemented. 'Ewes' in (a) refers to ewes whose lactations were included in the study; all other parameters were calculated for all ewes on the farm. Prolificacy in (c) was calculated as newborns/lambing and lambs/ewe was calculated live lambs/ewe/year.



**Figure 3** Productivity parameters on the dairy intensive farm by lactation order, 2009 to 2015. Milk yield (a); Yield per day in milk (b); Lactation length (c); Dry period length (d). Numbers below the lactation orders indicate the number of lactations included in the calculation of each parameter. Values within the square bracket marked with asterisks differ significantly from values outside the bracket ( $P < 0.0001$ ).

The sheep population increased slightly until 2012, with the two periods associated with similar total yield/ewe per year, lambs/ewe per year and prolificacy, but dissimilar number of lambings/ewe per year. During the 10LY period,

adult ewe culling and lamb mortality numerically decreased (Table 3).

With the 5LY system, the number of lambings/ewe per year was  $1.42 \pm 0.01$ , compared with  $1.30 \pm 0.01$  during

Pesantez-Pacheco *et al.***Table 1** Production parameters on a dairy sheep intensive farm during the period 2009 to 2015 by lactations stratified by abortion, productivity and length

		Lactation type stratified by abortion			Lactation type stratified by productivity		Lactation type stratified by extreme length		Total
		NAL	AL	AAL	NPL	PL	NLL	ELL	
MY (l)	<i>n</i>	27 233	109	73	4885	22 530	27 005	410	27 415
	A $\pm$ SD	342 <sup>a</sup> $\pm$ 184	320 <sup>b</sup> $\pm$ 171	277 <sup>c</sup> $\pm$ 179	76 $\pm$ 81	400 $\pm$ 144	339 $\pm$ 182	556 $\pm$ 172	342 $\pm$ 184
	SEM	1.11	1.4	20.9	0.1	0.96	1.11	8.50	1.01
	<i>P</i> -value		0.008		<0.0001		0.014		
YDIM (l/day)	<i>n</i>	27 233	109	73	4317	22 531	26 438	410	26 848
	A $\pm$ SD	1.75 $\pm$ 1.2	1.62 $\pm$ 0.59	1.54 $\pm$ 0.6	1.51 $\pm$ 2.71	1.80 $\pm$ 0.51	1.76 $\pm$ 1.19	1.43 $\pm$ 0.46	1.75 $\pm$ 1.19
	SEM	0.01	0.57	0.76	0.041	0.003	0.01	0.02	0.01
	<i>P</i> -value		0.179		<0.0001		0.005		
LL (days)	<i>n</i>	27 233	109	73	4885	22 530	27 005	410	27 415
	A $\pm$ SD	192 $\pm$ 83	192 $\pm$ 78.1	176 $\pm$ 92	51 $\pm$ 42	222 $\pm$ 53	188 $\pm$ 79	398 $\pm$ 69	192 $\pm$ 83
	SEM	0.50	7.48	10.74	0.60	0.35	0.48	3.41	0.50
	<i>P</i> -value		0.253		<0.0001		<0.0001		
DPL (days)	<i>n</i>	18 090	73	43	386	17 820	17 932	274	18 206
	A $\pm$ SD	62 <sup>a</sup> $\pm$ 37	67 <sup>a</sup> $\pm$ 37	52 <sup>b</sup> $\pm$ 33	157.3 $\pm$ 73.0	60.9 $\pm$ 33.2	63.4 $\pm$ 36.9	30.0 $\pm$ 39.3	62.9 $\pm$ 37.2
	SEM	0.28	4.42	5.07	3.714	0.25	0.23	2.38	0.28
	<i>P</i> -value		0.099		<0.0001		0.007		
ILI (days)	<i>n</i>	18 021	109	73	385	17 818	17 929	274	18 203
	A $\pm$ SD	287 $\pm$ 48	291 $\pm$ 47.8	281 $\pm$ 49	245.2 $\pm$ 47.8	287.9 $\pm$ 47.9	285.2 $\pm$ 46.1	407.4 $\pm$ 32.0	287.0 $\pm$ 48.3
	SEM	0.36	5.59	7.53	2.44	0.36	0.34	1.93	0.36
	<i>P</i> -value		0.713		0.083		<0.0001		

NAL = normal lactation, without abortion; AL = lactation with an abortion; AAL = lactation after a lactation with abortion; NPL = nonproductive lactation or the opposite of PL; PL = productive lactation or lactation with  $\geq 120$  DIM and  $>100$  l/lactation; NLL = normal-length lactation; ELL = extremely long lactation ( $>350$  DEL); MY = milk yield/lactation; A = average; YDIM = daily milk yield; LL = lactation length; DPL = dry period length; ILI = interlambing interval of the current lactation.

**Table 2** Productivity parameters on an intensive dairy sheep farm during an earlier period featuring a 5LY (five lambing periods per year) management system and a later period featuring a 10LY (10 lambing periods per year) system

2010 to 2012 (5LY)				2014 to 2015 (10LY)			
	<i>n</i>	Average $\pm$ SD	SEM		Average $\pm$ SD	SEM	<i>P</i> -value
MY (l)	11 259	349 <sup>a</sup> $\pm$ 185	1.75	7839	370 <sup>b</sup> $\pm$ 156	1.76	<0.0001
YDIM (l/day)	11 025	1.7 $\pm$ 1.7	0.16	7717	1.7 $\pm$ 0.6	0.02	0.132
LL (days)	11 259	192 <sup>a</sup> $\pm$ 75	0.71	7839	218 <sup>b</sup> $\pm$ 75	0.84	<0.0001
DPL (days)	8510	69.1 <sup>a</sup> $\pm$ 34.8	0.38	4694	53.5 <sup>b</sup> $\pm$ 38.3	0.56	<0.0001
ILI-P (days)	7890	287 <sup>a</sup> $\pm$ 49	0.55	5685	294 <sup>b</sup> $\pm$ 48	0.64	<0.0001
ILI (days)	8509	283 <sup>a</sup> $\pm$ 50	0.54	4693	302 <sup>b</sup> $\pm$ 44	0.64	<0.0001
DPL-P (days)	7890	67.5 <sup>a</sup> $\pm$ 37.4	0.42	5685	58.9 <sup>b</sup> $\pm$ 35.0	0.46	<0.0001

MY = milk yield/lactation; YDIM = daily milk yield; LL = lactation length; DPL = dry period length; ILI-P = previous interlambing interval; ILI = interlambing interval of the current lactation; DPL-P = previous dry period length (before the current lactation). Values labeled with superscripts *a* and *b* differed significantly between the two periods ( $P < 0.0001$ ).

2014 to 2015 ( $P < 0.05$ ). Prolificacy, in contrast, remained stable between the two periods ( $1.69 \pm 0.78$  v.  $1.60 \pm 0.14$  lambs; Table 3). The distribution of lactation orders differed only slightly between the two periods, though significantly more higher-order lactations were observed during 2014 to 2015 ( $P < 0.0001$ , Figure 4).

Similar rates of lactations with abortion were observed with both systems (0.4% v. 0.6%,  $P > 0.05$ ). In contrast, the rate of nonproductive lactations was significantly higher in the 5LY system (14.3%, 1607/11259) than in the 10LY one (8.4%,

657/7841;  $P < 0.0001$ ). The rate of extremely long lactations was significantly lower during 2010 to 2012 with the 5LY system (1.0%, 115/11259 v. 2.7%, 208/7841;  $P < 0.0001$ ). Dry periods were significantly shorter and interlambing intervals significantly longer with 10LY (both  $P < 0.0001$ ).

#### Workload distribution

During the 5LY period, an average of  $889.19 \pm 158.47$  lambings per lambing period (range, 664 to 1291) was recorded, resulting in an average of  $1502.73 \pm 267.82$  live newborn

## Lacaune high-yield system of 10-lambings/year

**Table 3** Demographics and lactation data on an intensive dairy sheep farm during an earlier period featuring a 5LY (five lambing periods per year) management system and a later period featuring a 10LY (10 lambing periods per year) system

Parameter	2010 to 2012 (5LY)	SEM	2014 to 2015 (10LY)	SEM	P-value
Ewes on farm/year (n)	3580 ± 245 <sup>a</sup>	141.6	4051 ± 61 <sup>b</sup>	43.0	0.085
Lactations/year (n)	3753 ± 289	166.9	3921 ± 350	247.5	0.596
Ewes included/year* (n)	3059 ± 197	114.1	3321 ± 230	163.0	0.264
Yield/ewe per year (l)	428 ± 264	17.2	437 ± 219	4.5	0.691
Lambings/ewe per year (n)	1.42 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.00	1.30 ± 0.0 <sup>d</sup>	0.01	0.031
Prolificacy**	1.69 ± 0.8	0.05	1.60 ± 0.1	0.02	0.223
Lambs/ewe per year*** (n)	1.42 ± 0.2	0.12	1.40 ± 0.4	0.25	0.934
Culled ewes/year (%)	42.51 ± 7.5	4.34	35.39 ± 0.5	0.46	0.294
Culled ewes/year (n/M)	4532/10 741		2860/8102		
Milked ewes/year (%)	72.47 ± 1.4	0.80	74.04 ± 3.2	2.26	0.611
Live lambs/year (n)	5096 ± 10	594.2	5677 ± 903	903.0	0.609
Lamb mortality/year (%)	32.71 ± 9.5	5.47	24.57 ± 20.4	14.45	0.572
Lamb mortality/year (n/M)	7295/22 584		3795/15 149		

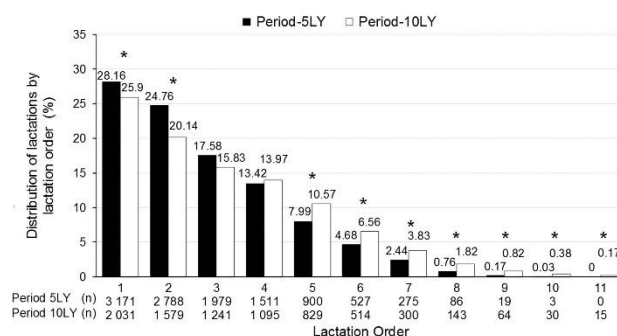
Unless otherwise noted, data refer to the entire flock.

Values labeled with superscripts *a* and *b* tended to differ between the two periods ( $P=0.085$ ). Values labeled with superscripts *c* and *d* differed significantly between the two periods ( $P<0.05$ ).

\*Includes only ewes whose lactations were included in the study.

\*\*Calculated as newborns/lambing each year.

\*\*\*Refers to live lambs/ewe.



**Figure 4** Distribution of lactation orders during the periods when the 5LY (five lambing periods per year) and 10LY (10 lambing periods per year) systems were implemented on a dairy sheep intensive farm. Numbers below the lactation orders indicate the number of lactations included in the calculation of each parameter. The frequency of the different lactation orders differed significantly between the two periods ( $P<0.0001$ ), with the exception of lactation orders 3 to 4.

lambs/lambing period and  $20.80 \pm 18.73$  lambings/day (range, 1 to 110). This corresponded to 500.6 lambs and 296.6 lambings per worker during the lambing periods. Extra work hours were necessary during the first 2 weeks of lambing periods, when the number of lambings/day was highest.

During the 10LY period, an average of  $443.66 \pm 253.18$  lambings per period (range, 85 to 937) was recorded, resulting in an average of  $709.85 \pm 405.10$  live newborn lambs/lambing period and  $15.16 \pm 7.83$  lambings/day (range, 1 to 51). This corresponded to 354.5 lambs and 221.5 lambings per worker during the lambing periods.

### Discussion

This long-term observational study of a single intensive dairy sheep farm in Spain verified the working hypothesis that

a more intensive reproductive rhythm with more lambing periods/year would distribute the workload throughout the year more evenly, without negative consequences on the productivity of the flock. The results show more milk/ewe per lactation and longer ewe longevity under a 10LY management system than under a 5LY management system, without concomitant changes in other productivity or efficiency parameters. In addition, lambings and newborn lambs were distributed more evenly over the year under the 10LY system, with fewer lambs and lambings per worker. Although the observational nature of our study prevents us from attributing our results directly to one or other management system, our data clearly indicate that a 10LY system is compatible with high productivity, good animal welfare, lower worker burden and more efficient resource use than a 5LY system, translating to higher profitability. In fact, when

Pesantez-Pacheco *et al.*

the 10LY system was in place, the farm was able to purchase a new lamb facility, which may have helped reduce lamb mortality. The investment with a 5LY system could not have been possible due to the double amount of lambs per lambing period, that would have enhanced the investment to more than 100%.

Mean milk yield indices did not differ significantly between 5LY and 10LY system periods, though the 10LY period involved slightly higher total milk yield per lactation ( $349 \pm 185$  v.  $370 \pm 156$  l), mainly due to a shorter dry period length and longer lactations. Studies from our group have already shown positive results of optimal dry period length (Hernández *et al.*, 2012). While interlambing period was longer by 20 days with the 10LY system than with the 5LY one, this difference is unlikely to be relevant in the field, and it may simply result from the fact that ewes were slightly older in 2014 to 2015 (Lewis *et al.*, 1996). The percentage of extremely long lactations was higher during the 10LY period than during the 5LY one, consistent with the longer previous interlambing interval, as previously observed (Hernández *et al.*, 2012). The percentage of nonproductive lactations was lower with 10LY, which is consistent with slight increases in average milk yield/lactation and average milk/ewe per year.

Low aseasonal reproductive performance often reduces the effectiveness of accelerated or out-of-season lamb production systems (Lewis *et al.*, 1996; DeNicolò *et al.*, 2008b). Several factors helped reduce flock seasonality in our study. Lacaune sheep are intrinsically less sensitive to photoperiod than other dairy breeds (Palacin *et al.*, 2008; Ramírez-Andrade *et al.*, 2008), and sheep under intensive conditions are unaffected by seasonal variations in food availability and thermoperiod, which otherwise influence animal performance (Finocchiaro *et al.*, 2005). The slightly lower number of lambings/ewe per year during 2014 to 2015 ( $1.30 \pm 0.01$  v.  $1.42 \pm 0.01$ ) is probably due to the fact that more mating periods occurred outside the reproductive season during this time than during 2010 to 2012.

None of the remaining lambing-related indices differed significantly between the periods with 5LY and 10LY (Table 3). Annual mortality was similar, although the relatively small datasets increase the risk that we failed to detect a true difference. Despite the huge quantity of individual data included in the study, annual index was one per year. Therefore, the total amount of them in our dataset were 3 v. 2, for the 5LY and 10LY periods, respectively. The new lambing facilities appeared to be associated with a tendency toward lower mortality, in part by reducing overcrowding in lamb pens; these effects have been observed on other intensive dairy farms (Dwyer *et al.*, 2016; Holmoy *et al.*, 2017). The investment in new facilities made sense only with the 10LY system because of the more intense reproductive rhythm. It would likely not have been cost-effective under the 5LY system.

Significantly more higher-order lactations occurred during the 10LY period (Figure 4). This may reflect the fact that the flock was growing until the end of 2012, so the proportion of ewes with fewer lactations was relatively large. It may also mean that the conditions with the 10LY system, extended the productive life of ewes, which would explain why the ewe

culling rate decreased continuously (Figure 2). A similar lengthening of productive life was observed in an accelerated Churra dairy ewe management system involving three lambings in 2 years, relative to an annual lambing system (El-Saied *et al.*, 2006). The potential ability of the 10LY system to prolong ewe productive life may be even greater than we observed because the culling rate during periods of flock growth is usually lower, and the flock was growing on the study farm during implementation of the 5LY system.

Lambing- and lamb-related workload with the 10LY system was lower and spread more evenly throughout the year than with the 5LY system, making the 10LY management system easier to implement with two workers needed all over the year than the 5LY system with three workers working just during 5 months/year at the lambing and lamb pens. This likely translated to better ewe management, which may help explain the observed decrease in culling and more higher-order lactations. Another benefit is likely to be worker welfare on the farm, which future studies should measure directly, as it is particularly important on large, intensively managed farms (Billikopf, 2001; Requejo *et al.*, 2011; Ripoll-Bosch *et al.*, 2014).

The average milk yield per lactation on the study farm decreased from  $434 \pm 183$  l/lactation for 2005 to 2009 (Elvira *et al.*, 2013b) to  $342 \pm 184$  l for 2009 to 2015. This may be due, to the fact that our earlier study of this farm included only complete lactations of healthy ewes (78% of total lactations), while the present study included all lactations. Moreover, the flock was younger during the previous study, with most ewes producing their first three lactations. While Hernández *et al.* (2011) found that mean milk yield declined with ewe age from the second lactation onwards, we found similar milk yield for lactations 1 to 4 in this study (Figure 3). Still other studies have shown lower milk yield during the first lactations in various sheep breeds, including Lacaune (Barillet *et al.*, 1992; Thomas *et al.*, 2014), Latxa (Gabiña *et al.*, 1993), Awassi (Gootwine and Pollott, 2000) and Italian traditional breeds (Selvagi *et al.*, 2017). These discrepancies may be due to differences in management systems. For example, average age at first lactation was  $420 \pm 57$  days in the present study, slightly lower than the average age in our previous study of the same farm ( $432 \pm 77$  days; Hernández *et al.*, 2011). Females with a mean Age at first lambing  $>420$  days probably achieve maximal milk productivity in the first lactations, because udder development is complete by the first lambing (Pollott and Gootwine, 2004). Our results likely also reflect the fact that our farm was no longer growing continuously from 2013 and ewes were aging. Nevertheless, the overall productivity during the study period was quite high, comparable with results reported for intensive management of Assaf sheep (Pollott and Gootwine, 2004) and Lacaune sheep (Regli, 1999).

In our study, lactations following a lactation interrupted by an abortion were shorter and less productive than normal lactations. It is likely that such a metabolically challenging event impairs the next lactation. Surprisingly, we observed that the dry period of a lactation before a lactation with an abortion was significantly longer than the dry period of lactations before normal lactations. To our knowledge, this has

never been reported before, and we are unable to explain it based on available data. Very often longer dry periods are linked to health problems, that could preclude an impaired health status during the next gestation, increasing perhaps the probability to suffer an abortion. Future research should verify this relationship and seek to explore its causes.

## Conclusions

On this Lacaune dairy sheep intensive farm, milk yield was slightly higher, lambings/ewe per year and ewe culling rate were lower, and workload was more uniformly distributed during the period with a 10LY. Therefore, our data do indicate that a highly intensive 10LY system is compatible with a lack of animal overcrowding, long animal productive life, efficient resource use and relatively low worker burden. In fact, our results further show that these parameters can be better under a 10LY system than under a less intensive 5LY system.

## Acknowledgments

The authors express their gratitude to Pedro Cuesta and Iagoba Cano (Research Support Department of the UCM, Madrid, Spain) for statistical analyses, and to the farm staff and veterinarians for their work.

## Declaration of interest

None.

## Ethics statement

The study did not include any experimental intervention on the animals, beyond the routine farming management practices that were in accordance with Spanish and European farming and animal welfare regulation.

## Software and data repository resources

None.

## References

Barillet F, Boichard D, Barbat A, Astruc JM and Bonaiti B 1992. Use of an animal model for genetic evaluation of the Lacaune dairy sheep. *Livestock Production Science* 3–4, 287–299.

Billikopf G 2001. Managing people on the farm. *Proceedings of the Library of Congress, Control Number 2001092378*, University of California, Agricultural Issues Center. Retrieved on 3 January 2018, from <https://nature.berkeley.edu/ucce50/ag-labor/7/abor/01.htm>.

Caja G and de Rancourt M 2002. Situation actuelle et perspectives de la production des ovins laitiers en Espagne. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches CIHEAM* 39, 57–66.

DeNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Kemp PD and Morel PCH 2008a. Ewe reproduction and lambing performance in a five period mating system. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 51, 397–407.

DeNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Kemp PD and Morel PCH 2008b. A comparison of two lamb production systems in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 51, 365–375.

Duncan JGS and Black WJM 1978. A twice-yearly lambing system, using Finnish Landrace x Dorset Horn ewes. *Animal Production* 26, 301–308.

## Lacaune high-yield system of 10-lambings/year

Dwyer CM, Conington J, Corbiere F, Holmoy IH, Muri K, Nowak R, Rooke J, Vipond J and Gautier JM 2016. Invited review: improving neonatal survival in small ruminants: science into practice. *Animal* 10, 449–459.

El-Saied UM, de la Fuente LF and Primitivo FS 2006. Phenotypic study on total and partial lifetime traits for dairy ewes. *Journal of Dairy Research* 73, 101–108.

Elvira L, Hernandez F, Cuesta P, Cano S, Gonzalez-Martin JV and Astiz S 2013a. Accurate mathematical models to describe the lactation curve of Lacaune dairy sheep under intensive management. *Animal* 7, 1044–1052.

Elvira L, Hernandez F, Cuesta P, Cano S, Gonzalez-Martin JV and Astiz S 2013b. Factors affecting the lactation curves of intensively managed sheep based on a clustering approach. *Journal of Dairy Research* 80, 439–447.

FAOSTAT 2014. Food and Agriculture data 2014 – livestock in food security/Rome, Italy/Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO-Statistics FAOSTAT).

Finocchiaro R, van Kaam JB, Portolano B and Misztal I 2005. Effect of heat stress on production of Mediterranean dairy sheep. *Journal of Dairy Science* 88, 1855–1864.

Fogarty NM and Mulholland JG 2013. Annual lambing performance of crossbred ewes in out-of-season and accelerated lamb production systems. *Animal Production Science* 53, 1093–1100.

Gabiña D, Arrese F, Arranz J and Beltran De Heredia I 1993. Average milk yields and environmental effects on Lata sheep. *Journal of Dairy Science* 76, 1191–1198.

Gootwine E and Pollott GE 2000. Factors affecting milk production in improved Awassi dairy ewes. *Animal Science* 71, 607–615.

Hernandez F, Elvira L, Gonzalez-Martin JV and Astiz S 2012. Influence of dry period length on reproductive performance and productivity of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *Journal of Dairy Research* 79, 352–360.

Hernandez F, Elvira L, Gonzalez-Martin JV, Gonzalez-Buñes A and Astiz S 2011. Influence of age at first lambing on reproductive and productive performance of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *Journal of Dairy Research* 78, 160–167.

Holmoy IH, Waage S, Granquist EG, L'Abée-Lund TM, Erstad C, Hektoen L and Sorby R 2017. Early neonatal lamb mortality: postmortem findings. *Animal* 11, 295–305.

Iniguez LC, Quaas RL and Van Vleck LD 1986. Lambing performance of Morlam and Dorset ewes under accelerated lambing systems. *Journal of Animal Science* 63, 1769–1778.

Lewis RM, Nottter DR, Hogue DE and Magee BH 1996. Ewe Fertility in the STAR Accelerated Lambing System. *Journal of Animal Science* 74, 1511–1522.

MAPAMA 2016. Agricultural, livestock and fisheries Ministry of Spain. Retrieved on 6 December 2017 from <http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/unio-europea/ovino/lacaune/frame-ejemplo-arca.aspx>.

Marai IFM, El-Darawany AA, Abou-Fandoud EI and Abdel-Hafez MAM 2009. Egyptian Suffolk ewe traits bred in 3 lambings/2 years system as affected by treatment with selenium in winter, progesterone + BMSG in summer and vitamin A in autumn, under the sub-tropical environment of Egypt. *Journal of Cell and Animal Biology* 3, 152–158.

Menegatos J, Goulas C and Kalogiannis D 2006. The productivity, ovarian and thyroid activity of ewes in an accelerated lambing system in Greece. *Small Ruminant Research* 65, 209–216.

Nottter DR and Copenhaver JS 1980. Performance of Finnish Landrace crossbred ewes under accelerated lambing. I. Fertility, prolificacy and ewe productivity. *Journal of Animal Science* 51, 1033–1042.

Palacin I, Abecia JA, Forcada F, Casao A, Cebrían JA, Muñio T, Palacios C and Pontes JM 2008. Effects of exogenous melatonin treatment on out-of-season ram fertility. *Italian Journal of Animal Science* 7, 199–206.

Pollott GE and Gootwine E 2004. Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *Journal of Dairy Science* 87, 3690–3703.

Ramírez-Andrade BR, Salama AA, Caja G, Castillo V, Albanell E and Such X 2008. Response to lactation induction differs by season of year and breed of dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 91, 2299–2306.

Regli JG 1999. Farm adapted breeds: a panel presentation of flock performance records for Lacaune dairy sheep. *Proceedings of the 5th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*, 4 to 6 November, Brattleboro, VT, USA, pp. 51–54.

Requejo JA, Martín S, López R, Hernández F and Ruiz Mantecón A 2011. Working force management and its influence on the different reproductive

Pesantez-Pacheco *et al.*

systems). La gestión de la mano de obra y la influencia de los diferentes manejos reproductivos. *Tierras* 185, 22–27.

Ripoll-Bosch R, Joy M and Bernues A 2014. Role of self-sufficiency, productivity and diversification on the economic sustainability of farming systems with autochthonous sheep breeds in less favoured areas in Southern Europe. *Animal* 8, 1229–1237.

Robinson TJ 1980. Programmed year-round sheep breeding. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 20, 667–673.

Selvaggi MA, D'Alessandro G and Dario C 2017. Environmental and genetic factors affecting milk yield and quality in three Italian sheep breeds. *Journal of Dairy Research* 84, 27–31.

Thomas DL, Berger YM, McKusick BC and Mikolayunas CM 2014. Dairy sheep production research at the University of Wisconsin-Madison, USA – a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 5, 1–12.

Ugarte E, Ruiz R and Gabiña DI 2001. Impact of high-yielding foreign breeds on the Spanish dairy sheep industry. *Livestock Production Science* 7, 3–10.

Walton P and Robertson HA 1974. Reproductive performance of Finnish Landrace ewes mated twice yearly. *Canadian Journal of Animal Science* 54, 35.

Zarkawi M 2011. Response of fat-tailed Syrian Awassi ewes to accelerated lambing systems. *Tropical Animal Health and Production* 43, 1311–1318.



4.3 Estudio II: Influencia de factores maternos sobre diferentes aspectos productivos y metabólicos de la propia oveja y su descendencia.

4.3.1 Influencia de los factores maternos: peso, condición corporal, edad (adulta vs. cordera) y tipo de gestación sobre el perfil metabólico de ovejas lecheras y el efecto de estos sobre su descendencia.

Este estudio ha sido publicado en marzo de 2019

Influence of maternal factors (weight, body condition, parity, and pregnancy rank) on plasma metabolites of dairy ewes and their lambs.

José Luis Pesántez Pacheco, Ana Heras Molina, Laura Torres Rovira, María Victoria Sanz Fernández, Consolación García Contreras, Marta Vázquez Gómez, Pablo Feyjoo, Elisa Cáceres, Millán Frías Mateo, Fernando Hernández, Paula Martínez Ros, Juan Vicente González-Martín, Antonio González-Bulnes, y Susana Astiz.

Animals 2019, 9(4), 122; doi.org/10.3390/ani9040122

#### 4.3.1.1 Resumen

Estados fisiológicos como la gestación y la lactación son etapas de alta demanda de nutrientes, lo que desencadena un estado de desafío metabólico y que puede afectar al desempeño productivo tanto de la madre como de la descendencia.

El estudio tenía como objetivo evaluar el efecto de la edad (adulta vs. cordera), tipo de gestación (gestación simple vs. múltiple) y la condición corporal (CC) sobre el propio metabolismo materno, así como la influencia de estos factores y del perfil metabólico materno sobre el peso al nacimiento y el perfil metabólico de su descendencia.

Los datos obtenidos indican que la edad de la oveja afectó a la evolución en el tiempo del peso corporal y de la CC de las ovejas adultas y corderas ( $P<0,0001$ ). Las ovejas adultas presentaron mayor peso y CC durante toda la gestación y después del parto en comparación con las corderas; estas perdieron, además, más peso y CC durante el postparto.

El tipo de gestación (simple vs. múltiple) sólo afectó a la variación de peso de los animales ( $P<0,0001$ ), observándose que las ovejas con gestación múltiple alcanzaron un mayor peso a mitad de gestación y un mayor incremento de peso al final de gestación que aquéllas con gestación simple.

Los marcadores bioquímicos representativos del metabolismo de glúcidos, proteínas y lípidos se mantuvieron en todos los casos dentro de los valores considerados fisiológicos para la especie.

La concentración plasmática de glucosa se incrementó con el tiempo de gestación ( $P<0,0001$ ), siendo este incremento más pronunciado en corderas durante el final de gestación en comparación con las ovejas adultas en este mismo período de tiempo. Las ovejas con gestación simple presentaron un aumento de glucosa durante la gestación más acusado que las ovejas con gestación múltiple. Sin embargo, durante el postparto, los animales con gestación múltiple mostraron una elevación más drástica de este metabolito que las ovejas con gestación simple, independientemente de la edad de la oveja (adulta o cordera).

La condición corporal medida a mitad de gestación (CC-1) mostró una interacción con la edad de la oveja en la evolución de la concentración de la glucosa durante la gestación ( $P<0,001$ ). Este efecto de la CC sobre la concentración de glucosa no se observó cuando se analizó exclusivamente a ovejas adultas, mientras que las corderas que tenían una mayor CC en mitad de gestación (CC-1) mostraban mayores concentraciones de glucosa durante toda la gestación en comparación con las corderas de menor CC.

Los niveles plasmáticos de lactato disminuyeron durante la gestación y en el postparto, tanto en adultas como en corderas. Las ovejas con gestación simple tuvieron una disminución más acentuada durante toda la gestación y el postparto que las ovejas con gestación múltiple. Las adultas y corderas con una menor CC a final de gestación (CC-2) presentaron niveles inferiores de lactato, mientras que en el postparto estos niveles se incrementaron ( $P<0,05$ ). Las corderas con una mayor CC medida en el postparto (CC-3) tuvieron un incremento de los niveles de lactato durante final de gestación, para disminuirlos en el postparto en comparación con las corderas de media y baja CC.

La evaluación del metabolismo lipídico materno mostró una interacción entre el momento de estudio y la edad de la oveja sobre las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos ( $P<0,0001$ ). Las corderas mostraron una elevación más marcada de los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos durante toda la gestación que las ovejas adultas. Los cambios en los niveles de colesterol y triglicéridos fueron independientes del tipo de gestación ( $P>0,05$ ). Sin embargo, las corderas con gestación múltiple mostraron, durante el postparto, un incremento más pronunciado de las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos, que las corderas con gestación simple.

Otro factor que afectó a estos metabolitos fue la CC a mitad de gestación (CC-1) que mostró un efecto significativo sobre los niveles de colesterol, tanto en ovejas adultas ( $P=0,02$ ) como en corderas ( $P<0,001$ ). Sin embargo, este efecto de la CC medido a final de gestación (CC-2) sólo se observó en ovejas adultas ( $P<0,0001$ ), ya que las ovejas adultas con menor CC-2 mostraron niveles inferiores de colesterol que las ovejas adultas de mayor CC-2 durante toda la gestación.

Por otro lado, la concentración plasmática de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB) aumentó durante la gestación y se mantuvo alta aún en el postparto, tanto en ovejas adultas como en corderas; aunque este aumento fue mayor en las corderas ( $P<0,0001$ ). Los niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFA) se vieron afectados por una interacción entre el momento de estudio y la edad de la oveja

( $P<0,0001$ ). Las concentraciones de NEFA en corderas disminuyeron con el tiempo de gestación y en el postparto, mientras que en las ovejas adultas los valores fueron altos durante la gestación, pero bajos en el postparto. Las ovejas con gestación múltiple mostraron valores de  $\beta$ HB más altos al final de la gestación y en el postparto con respecto a las ovejas con gestación simple independientemente de la edad de la oveja. Los niveles de NEFA, se vieron afectados por el tipo de gestación de la oveja ( $P<0,001$ ); las ovejas adultas con gestación múltiple mostraron un aumento más pronunciado a final de gestación en comparación con las ovejas adultas con gestación simple.

La CC medida tanto a final de gestación (CC-2) como en el postparto (CC-3) afectó significativamente los niveles de  $\beta$ HB, pero sólo en ovejas adultas ( $P<0,001$ ; para ambos momentos). Las ovejas adultas con menor CC tanto a final de gestación como en el postparto presentaron un pico en los niveles de  $\beta$ HB a final de gestación en comparación con las ovejas más gordas. Por el contrario, las concentraciones de NEFA no se vieron afectadas por la CC.

Las ovejas adultas presentaron niveles de urea que disminuyeron durante la gestación y aumentaron después del parto, mientras que las corderas tuvieron un aumento constante y leve durante la gestación y un incremento más pronunciado en el postparto. El tipo de gestación afectó al cambio en la concentración de urea en el tiempo, pero sólo en corderas ( $P<0,05$ ). Las corderas con gestación simple mostraron un ligero aumento en los niveles de urea durante la gestación, mientras que tuvieron un incremento más marcado en el postparto en comparación con las corderas con gestaciones múltiples. La condición corporal medida tanto a final de gestación (CC-2) como en el postparto (CC-3) también afectó a la concentración plasmática de urea, pero solo en ovejas adultas ( $P<0,05$ ; para ambos momentos), las ovejas adultas con mayor CC a final de gestación como en el postparto mostraron niveles más altos de urea después del parto en comparación con las ovejas con menor CC.

El peso medio al nacimiento de los corderos fue de  $4,27 \pm 0,67$  kg y su ganancia media diaria de peso fue de  $0,237 \pm 0,07$  kg. Los machos fueron ligeramente

más pesados que las hembras al nacimiento ( $4,14 \pm 0,95$  vs.  $3,79 \pm 0,86$  kg;  $P < 0,0001$ ), pero la diferencia no fue estadísticamente significativa a los 17 días. Los corderos más livianos fueron los que nacieron de madres corderas (primíparas) y ovejas con gestación múltiple, ( $4,25 \pm 0,84$  vs.  $3,53 \pm 0,87$  kg en adultas y en primíparas,  $P < 0,0001$ ;  $4,28 \pm 0,91$  vs.  $3,81 \pm 0,89$  kg para gestaciones simples y múltiples,  $P < 0,0001$ ), siendo los corderos más livianos aquellos que nacieron de madres corderas con gestación múltiple. A los 17 días de edad los corderos nacidos de ovejas adultas continuaron siendo más pesados ( $8,8 \pm 2,05$  vs.  $6,8 \pm 1,63$  kg;  $P < 0,0001$ ), mientras que los corderos que nacieron de ovejas adultas con gestación múltiple compensaron esta diferencia, siendo los corderos nacidos de primíparas con gestación múltiple los de menor peso a los 17 días de edad ( $8,72 \pm 2,06$  vs.  $6,61 \pm 1,57$  kg;  $P < 0,0001$ ).

Algunos de los parámetros metabólicos del cordero se vieron afectados por su sexo; los machos tuvieron mayores niveles de glucosa y triglicéridos y menores de colesterol. Los corderos nacidos de ovejas adultas mostraron menores niveles de triglicéridos y lactato y mayores concentraciones de urea que los corderos nacidos de primíparas. El tipo de gestación de la madre no tuvo efecto sobre el perfil metabólico de sus corderos.

El peso del cordero al nacimiento se vio afectado por la CC de la madre, los corderos nacidos de madres con mayor CC fueron los más pesados y más grandes que los corderos nacidos de ovejas con menor CC. Asimismo, estos corderos tenían mayores niveles de  $\beta$ HB a los 17 días de edad.

El metaboloma de la madre no ejerció apenas efecto sobre el fenotipo del cordero, excepto en el caso del  $\beta$ HB materno a mitad de gestación. Este parámetro se relacionó con un mayor peso al nacer, específicamente en ovejas con gestación múltiple ( $r=0,265$ ;  $P < 0,0001$ ).

En resumen, los resultados reportados reflejan una muy buena adaptación de las ovejas lecheras, tanto adultas como corderas (primíparas), para cubrir las demandas de nutrientes durante la gestación, incluso en gestaciones múltiples, siempre que reciban una dieta adecuada, como es el caso de esta granja. Por

otro lado, la gestación concomitante con la lactación originada por la gestación previa implica un desafío metabólico aún más acentuado. Sin embargo, en nuestro caso, todos los valores de los metabolitos analizados se encontraron siempre dentro de valores fisiológicos, y aunque eran modulados de diferente manera por los distintos factores, podemos afirmar que el óptimo manejo nutricional efectuado fue suficiente para cubrir las demandas metabólicas de la oveja en situaciones extremas, como puede ser una gestación múltiple concomitante a una lactación muy productiva.

## 4.3.1.2 Artículo original: doi.org/10.3390/ani9040122



animals



Article

## Influence of Maternal Factors (Weight, Body Condition, Parity, and Pregnancy Rank) on Plasma Metabolites of Dairy Ewes and Their Lambs

Jose Luis Pesántez-Pacheco <sup>1,2</sup> , Ana Heras-Molina <sup>2</sup>, Laura Torres-Rovira <sup>2</sup>, María Victoria Sanz-Fernández <sup>2</sup> , Consolación García-Contreras <sup>2</sup>, Marta Vázquez-Gómez <sup>4</sup> , Pablo Feyjoo <sup>4</sup>, Elisa Cáceres <sup>4</sup>, Millán Frías-Mateo <sup>4</sup>, Fernando Hernández <sup>3</sup>, Paula Martínez-Ros <sup>5</sup>, Juan Vicente González-Martin <sup>4,6</sup>, Antonio González-Bulnes <sup>2,4</sup> and Susana Astiz <sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> School of Veterinary Medicine and Zootechnics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Cuenca, Avda. Doce de Octubre, 010220 Cuenca, Ecuador; jose.pesantez@ucuenca.edu.ec

<sup>2</sup> Department of Animal Reproduction, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias y Alimentarias (INIA), Avda Pta. de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain; andelash@ucm.es (A.H.-M.); torreroivi@gmail.com (L.T.-R.); mvsanzfernandez@gmail.com (M.V.S.-F.); garcia.consolacion@inia.es (C.G.-C.); bulnes@inia.es (A.G.-B.)

<sup>3</sup> Technical Department, Granja Cerromonte SL, 05358 San Juan de la Encinilla, Ávila, 05358, Spain; granja@cerromonte.es

<sup>4</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Complutense University of Madrid (UCM), Avda. Pta. de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain; mvgomez@ucm.es (M.V.-G.); feyjo096@gmail.com (P.F.); elicacer@ucm.es (E.C.); millanfr@ucm.es (M.F.-M.); juanvi@vet.ucm.es (J.V.G.-M.)

<sup>5</sup> Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPTA), Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Tíran lo Blanc, 7. 46115 Alfara del Patriarca Valencia, Spain; paula.martinez@uchceu.es

<sup>6</sup> Technical Department, TRIALVET SL, C/ Encina 22, Cabanillas de la Sierra, 28721 Madrid, Spain

\* Correspondence: astiz.susana@inia.es; Tel.: +34-91-347-37-69

Received: 18 February 2019; Accepted: 25 March 2019; Published: 28 March 2019



**Simple Summary:** The present study assessed the effects of maternal parity, weight, body condition score (BCS), and pregnancy rank (single vs. multiple) on maternal metabolism during pregnancy and subsequent lactation, as well as on lamb birth weight, perinatal viability, and metabolism. The results highlight the relevance of appropriate nutritional management to maintain maternal BCS and offspring metabolism within physiological ranges, allowing sheep to face the metabolic challenges of lactation and pregnancy. Adequate nutrition and management reduce the influence of maternal factors on offspring phenotype.

**Abstract:** Pregnancy and lactation are challenging states that affect maternal and lamb health. In Lacauene dairy sheep, we evaluated the impact of parity, pregnancy rank, and body condition on body weight and the condition of ewes and lambs in mid-pregnancy ( $75 \pm 5$  d), in late pregnancy ( $142 \pm 4$  d), and postpartum ( $52 \pm 5$  d pp). Maternal age was associated with initial decreases, followed by increases, in body weight and condition. After lambing, both mature and maiden ewes lost weight and body condition. Maternal indices of glucose, protein, and lipid metabolism were within physiological values during pregnancy, but postpartum values depended on maternal parity and pregnancy rank, with multiple-pregnant ewes showing a postpartum increase in glucose and maiden sheep a postpartum increase in plasma cholesterol concentration. Male lambs were heavier than female lambs at birth, and lambs born to mothers with higher body condition scores were heavier. Lambs born as singletons were heavier than those born in litters. Maternal age and pregnancy rank did not influence lamb metabolic indicators. Sex affected plasma concentrations of glucose, triglycerides, and cholesterol. Maternal metabolic indicators showed minimal effects

on lamb phenotype. These results suggest that, when appropriately fed, dairy sheep can cover the metabolic demands of pregnancy and milk production, regardless of age and pregnancy rank.

**Keywords:** high milk yield; dairy sheep; pregnancy; age; metabolomics; body condition score; birth weight

## 1. Introduction

The productive performance of farms is highly dependent on adequate metabolic status of the animals. In dairy females, cows or sheep, the two stages of high metabolic demand (lactation and gestation) tend to be concurrent, since pregnancy is induced when animals are still producing milk [1]. During lactation, concomitant with early and mid-pregnancy, around 80% of the metabolites (i.e., free amino acids, glucose, and fatty acids) circulating in the blood are used for milk production [2]. During later stages of pregnancy, maternal metabolism focuses mostly on providing energy for fetal development and growth [3]. These increased metabolic challenges cannot be met through the intake of increased dry matter in the case of dairy cows or ewes, particularly those in late pregnancy and the early postpartum period. Instead, these animals adapt their metabolism of carbohydrates, proteins, and lipids [4,5] to maintain their own homeostasis and to channel glucose and other nutrients towards the pregnant uterus and the lactating mammary gland. These events have been intensively studied in cows, but there is a scarcity of data on dairy sheep.

Body weight (BW) and body condition score (BCS) are often used as indicators of the appropriateness of a ewe's nutrition and the level of energy reserves during mid-pregnancy and late pregnancy; these variables correlate with changes in circulating factors that manage the body's energy reserves [6]. However, BW during late pregnancy is affected by the number of fetuses, and its usefulness as an indicator has other limitations [7,8]. More detailed knowledge of the metabolic status of ewes during the demanding periods of pregnancy and lactation may help identify more accurate ways to assess ewe nutrition and thereby optimize performance [9].

In dairy ruminants, the combination of high nutrient demand and low intake during early lactation and late pregnancy can give rise to negative energy balance, which substantially increases the risk of metabolic diseases [10], particularly ketosis. Pregnant and lactating dairy ewes frequently develop ketosis, as can ewes in late pregnancy (which are no longer lactating); this ketosis contributes to significant production losses. In sheep, lipid mobilization may begin several weeks before lambing, especially in ewes with multiple pregnancies [11]. Catabolism of amino acids increases in mothers, involving protein breakdown in skeletal muscles [2,9,12] at the expense of protein synthesis [4], as well as recycling urea into the rumen and decreasing its urinary excretion [13]. This breakdown makes amino acids available, which are used as a gluconeogenic or ketogenic substrate in the liver [14].

Inadequacy of energy balance in pregnant sheep is dangerous not only for the mothers but also for the pre- and perinatal viability and performance of lambs [15,16]. Restricted metabolite availability during pregnancy can increase risk of low birth weight and perinatal mortality [4,12].

Fetal development is influenced by genetic and maternal factors, which can interact with one another. Maternal physiology and placental function exert a profound effect on fetal growth and account for over 30% of the variation in birth weight [17]. Maternal nutrition is essential for an adequate supply of nutrients and environmental products required for fetal development [18]. Maternal under- and overnutrition can significantly affect lamb prenatal growth, development, and productive performance through prenatal programming [19,20]. In addition to inadequate maternal nutrition, other maternal factors (BW, age, parity) can influence lambs' ability to fulfil their metabolic requirements [21,22]. Indeed, mother and fetus compete for the nutrients needed for maternal body development (primiparous ewes) or for lactation (multiparous ewes). Pregnancy rank (single vs.



multiple) can exacerbate the negative effects of maternal factors, reflecting the limited ability of the mother to supply nutrients to the fetus in multiple pregnancies [21].

We hypothesized that the effects of maternal factors (i.e., parity, weight, body condition, and pregnancy rank) on maternal metabolism and characteristics of the offspring may be exacerbated in high-yielding dairy ewes. The available information is, however, very scarce. Therefore, the present study analyzed a single, adequately fed, high-producing, Lacaune dairy sheep flock to explore the influence of maternal age or parity (maiden vs. mature ewe), pregnancy rank (single vs. multiple), and maternal body condition score (thin vs. average vs. fat) on maternal metabolism in mid-pregnancy, in late pregnancy, or postpartum as well as on offspring metabolism and BW. This comprehensiveness will help us to better assess the health and productivity of high-yielding dairy sheep.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Animals and Handling

The study was carried out on a flock of high-yielding Lacaune dairy sheep located at a single commercial farm (Cerro Monte Farm, San Juan de la Encinilla, Avila, Spain; continental weather, latitude of 40.90 N, altitude of 900 m above sea level). Sheep were housed indoors with outdoor access, so they were exposed to seasonal changes in photoperiod and temperature. Production parameters are summarized in Table 1, while criteria for selection of animals are indicated in Figure 1. According to their production level, they received unifeed mixtures (total mixed ration system) containing corn, soybean, dried beet pulp, alfalfa, rye-silage, and wet brewer's grain. Sheep were monitored for adequate health status and specific pathogens and were milked twice a day.

**Table 1.** Productive parameters of the farm during the period studied (2016–2018).

Parameters	2016	2017	2018
TMY (l)	319	368	358
YDIM (l/day)	1.62	1.81	1.74
LL (days)	198	202	204
ILI (days)	262	266	269
DPL (days)	63	65	66

TMY: total milk yield per lactation; YDIM: yield per day in milk; LL: lactation length; ILI: interlambing interval; DPL: dry period length.

Pregnancies in mature and maiden sheep occurred after 14-day treatment with intravaginal progestogen-impregnated sponges (20 mg fluorogestone acetate, FGA; Chronogest®, MSD AH, Boxmeer, Netherlands). On the day of sponge removal, ewes received 400 i.u. of eCG (Foligon®, MSD AH) and immediately afterwards were exposed to natural mating with proven rams, 2–5 years old, at a rate of 1:5 for 28 days. Ram fertility was checked individually by routine testing of ram reproductive capacity (libido, mounting capacity, sperm motility, and concentration), as performed by the farm veterinarian.

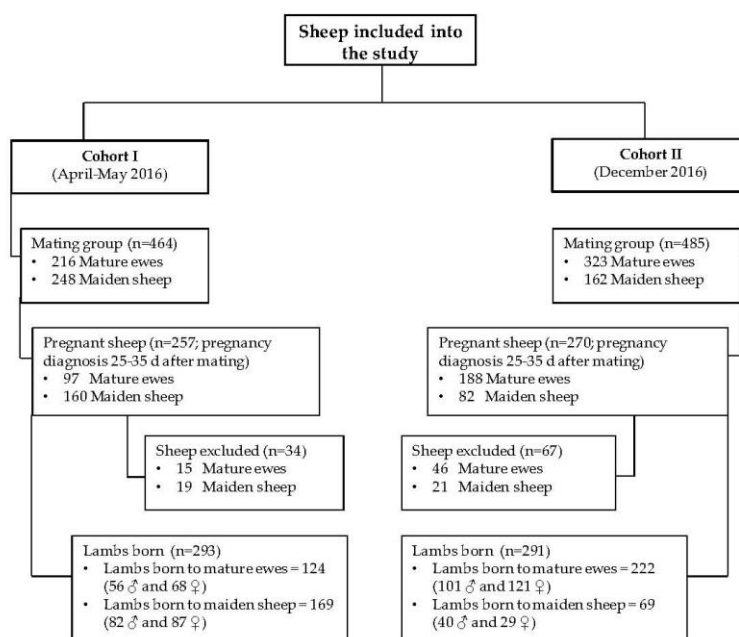
Sheep lambed in collective pens, and the lambs were weaned on the day after birth and then fed with formula (ELVOR 62, Sofivo, Saint Brice en Coglès, France) in a closed “weaning unit” for 18–25 days. The weaning unit had a capacity of 960 newborn lambs, divided into pens containing 60 lambs each. Each pen was equipped with slatted flooring, temperature control (minimum, 17 °C; maximum, 27 °C), separate ventilation systems, and automatic lamb feeders.

### 2.2. Study Design and Measured Variables

This study was prospective, randomized, observational, and cohort-based (Figure 1). Two mating groups (both including mature and maiden sheep) were monitored during two reproductive seasons (April–May and December). Adult sheep were between 2 and 5 years old, with an average of 3.5 years old, and were evenly distributed among groups. Pregnancy was diagnosed by transabdominal

ultrasonography (NanoMax, Sonosite, Bothell, WA, USA) at 25–35 days after ram introduction in order to select cohorts of pregnant sheep with similar lambing dates.

Altogether the study included 527 pregnant ewes (285 mature and 242 maiden), from which 34 were lost from the first mating group and 67 lost from the second group during late pregnancy or parturition because of death (8 ewes), abortion (3), non-pregnancy (7), lambings after the date predicted (3), or an absence of identification of lambs born (80). Subsequently, a total of 584 lambs (305 females and 279 males) were included in the study, of which 346 were born to mature ewes and 238 to maiden ewes. A global lamb mortality of 5.82% was observed (34/584 lambs), and 550 lambs could be measured and sampled at the age of 17 days.



**Figure 1.** Scheme illustrating sheep inclusion in the different cohorts to follow sheep pregnancy, lambing, the postpartum period, and the neonatal life of the studied individuals at a commercial, high-yielding Lacaune dairy farm.

Parameters recorded and used to categorize and compare sheep and lambs

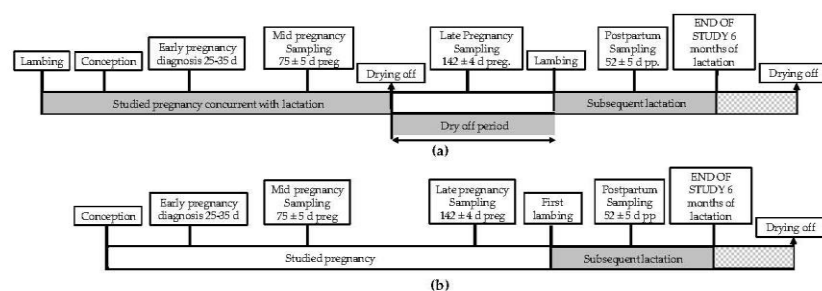
The parameters recorded and used to study the population were as follows.

- Pregnancy rank: single vs. multiple (diagnosed by ultrasonography and verified after lambing)
- Parity: maiden sheep vs. adult sheep
- Body condition score (BCS), as assessed by two trained observers using the 5-point scale (1 = emaciated, 5 = obese) [23]. BCS was determined three times: in mid-pregnancy (BCS-1;  $75 \pm 5$  days of pregnancy), in late pregnancy (BCS-2;  $142 \pm 4$  days of pregnancy), and postpartum (BCS-3;  $52 \pm 5$  days after lambing). On the basis of BCS, sheep were divided into three groups: thin ( $BCS \leq 2$ ), average ( $2 < BCS < 3$ ), or fat ( $BCS \geq 3$ ).
- Lamb parameters:

- Sex of the lamb: Male vs. female
- Sex of sibling(s) (in multiple lambings)
  - Male and female siblings
  - Only male sibling(s) (same as the lamb)
  - Only female sibling(s) (same as the lamb)
- Lamb birth weight
  - Normal-birth-weight lambs: Lambs with birth weight  $>3$  kg
  - Low-birth-weight lambs: Lambs with birth weight  $\leq 3$  kg. This was equivalent to one standard deviation below the mean birth weight of all lambs [24,25].

### 2.3. Metabolic Parameters of Sheep

All ewes were sampled for metabolic testing at the same three times when BCS was determined (Figure 2). BW was individually recorded using an electronic balance (TRU-TEST, Auckland, New Zealand). Fasting plasma samples were collected via jugular venopuncture into standard 10 mL ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) vacuum tubes (Vacutainer® System Europe; Becton Dickinson, Meylan, France). Blood samples were centrifuged at 1500 g for 15 min, and the plasma was stored in polypropylene vials at  $-80$  °C for later metabolic assays using a clinical chemistry analyzer (Saturno 300 plus, Ciron Instruments s.r.l., Rome, Italy) according to the manufacturer's instructions. The following biochemical parameters were measured as metabolic indicators: plasma glucose (GLU), lactate (LAC), cholesterol (CHO), triglycerides (TGL),  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -OHB), non-esterified fatty acids (NEFA), and urea (UR).



**Figure 2.** Timeline of monitoring of (a) pregnant adult sheep and (b) pregnant maiden sheep. Measurements were taken three times (in mid-pregnancy, in late pregnancy, and postpartum) distributed over the “studied” lactation and pregnancy as well as the “subsequent” lactation.

### 2.4. Assessment of Early Postnatal Development and Metabolic Features of Lambs

Immediately after lambing, 584 living lambs were labelled with ear tags indicating the mother, and they were sexed and weighed. A total of 88 adult sheep had singletons while 134 had twins, and 104 maiden sheep had singletons while 86 had twins. At the age of  $17 \pm 5$  days, a total of 34 lambs had died (5.82% total mortality rate); 16 dead lambs were born to mature ewes (16/346; 4.62% mortality rate in mature ewes) and 18 to maiden sheep (18/238; 7.56% mortality rate in maiden sheep). A total of 19 dead lambs were male (19/279; 6.8%, and 15 were female (15/305; 4.92%). At this second time point, lambs were weighed, and body-length was measured using a standard measuring tape. Trunk length was defined as the distance of the spine from the withers to the base of the tail. Body mass index (BMI) was calculated [birth weight in (kg)/length in (m)<sup>2</sup>] as described [26]. Thoracic and abdominal circumferences were measured only at the second time point ( $17 \pm 5$  days old). At this

second time point, blood samples were taken via jugular venopuncture into standard 5 mL EDTA vacutainer tubes and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until a later assay of the same metabolic parameters as in adult and maiden sheep.

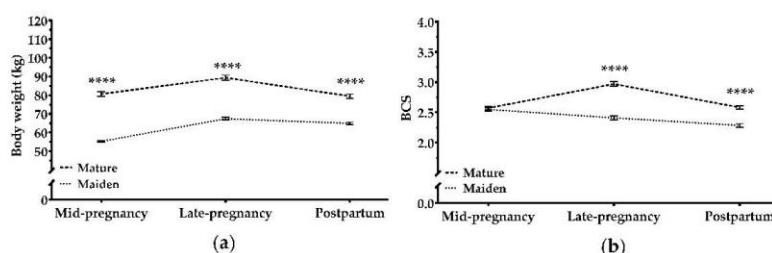
### 2.5. Statistical Analyses

Data were analyzed using SPSS® 22.0 (IBM, Armonk, New York, USA) by the Statistical Department of the Center for Research Support of Complutense University of Madrid, Spain. Changes over time in BW, BCS, BMI, length, and metabolic indices of sheep and lambs were assessed for significance using Analysis of Variance (ANOVA) for repeated measures in a general linearized model with Greenhouse–Geisser correction. Differences between groups at different time points were assessed for significance using non-parametric analysis, the Kruskal–Wallis test or the Mann–Whitney test, after confirming the skewed (non-normal) distribution of the data. Inter-group differences in body circumference, average daily gain, and metabolic indices in lambs were also assessed for significance using the independent  $t$  test. Pearson correlation coefficients were calculated to assess the strength of potential relationships between sheep variables, or of relationships of lamb birth weight with maternal metabolic indices. Data were expressed as mean  $\pm$  S.E.M., and differences were considered significant if  $p < 0.05$ . Differences associated with  $p$  between 0.05 and 0.09 were defined as tendencies.

## 3. Results

### 3.1. Changes in Maternal BW and BCS Throughout Pregnancy

BW and BCS were higher in mature ewes than in maiden ewes at all time points ( $p < 0.0001$ ; Figure 3). Both groups increased significantly in BW during pregnancy (both  $p < 0.0001$ ), but only mature sheep increased significantly in BCS ( $p < 0.0001$ ).



**Figure 3.** Body weight (kg) (a) and body condition score (BCS) (b) in mature ewes (dashed line) and in maiden sheep (dotted lines) throughout the study period. Data are mean  $\pm$  S.E.M. Time  $\times$  age-group interaction was significant ( $p < 0.0001$ ). Asterisks indicate significant differences between age groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ).

Maternal BW was higher and increased more steeply in late stages of multiple pregnancies than in late stages of single pregnancies ( $p < 0.001$ ; Figure S1). Pregnancy rank did not, however, significantly affect maternal BCS.

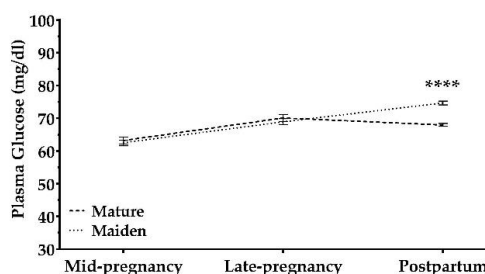
### 3.2. Changes in Maternal Metabolic Indices Throughout Pregnancy

#### 3.2.1. Glucose

Maternal plasma glucose increased during pregnancy (Figure 4): levels were higher and the increase steeper in maiden than in mature sheep at late pregnancy (significant interaction time  $\times$  age). This increase was modulated by pregnancy rank, independently of age: compared to multiple



pregnancies, single pregnancies showed higher glucose concentration throughout gestation and a sharper increase in late gestation.

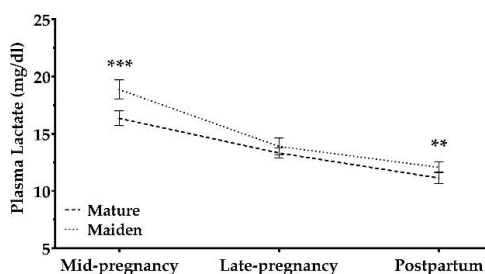


**Figure 4.** Plasma glucose concentrations (mg/dL) in mature ewes (dashed line) and maiden ewes (dotted lines) throughout the study period. Data are mean  $\pm$  S.E.M. The time  $\times$  age-group interaction was significant ( $p < 0.0001$ ). Asterisks indicate significant differences between age groups (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ).

Maternal age and BCS interacted to affect plasma glucose concentrations throughout pregnancy. Maiden sheep, but not mature sheep, with high BCS in mid-pregnancy showed higher plasma glucose concentrations during mid and late pregnancy than did those with lower and average BCS. In contrast, mature ewes, but not maiden sheep, with high BCS in late pregnancy showed higher plasma glucose concentrations at late pregnancy than did ewes with lower BCS (Figure S2).

### 3.2.2. Lactate

Maternal plasma lactate concentrations decreased during and after pregnancy in all the animals, independently of age (Figure 5). However, lactate levels were affected by pregnancy rank: the decrease in levels during pregnancy tended to be steeper for single pregnancies than for multiple ones ( $p = 0.07$ ).

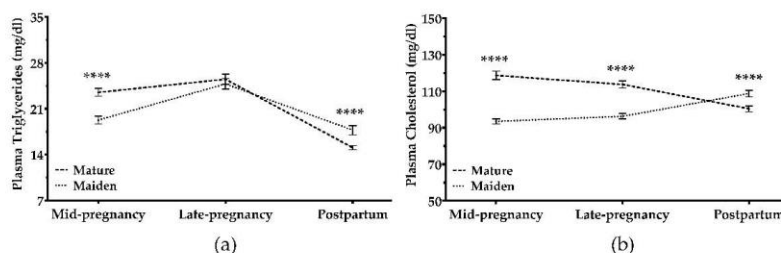


**Figure 5.** Plasma lactate concentrations (mg/dL) in mature sheep (dashed line) and maiden sheep (dotted lines) throughout the study period. Data are mean  $\pm$  S.E.M. Asterisks indicate significant differences between age groups (\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ).

Plasma lactate concentrations were affected by BCS in late pregnancy (BCS-2) in both mature and maiden sheep: a lower BCS-2 was related to lower lactate levels in late pregnancy and to higher levels postpartum ( $p < 0.05$ ). Lactate concentrations were affected by BCS-3 only in maiden sheep: fatter females showed a significant increase in lactate at late pregnancy ( $p < 0.05$ ; Figure S3).

### 3.2.3. Cholesterol and Triglycerides

Maternal plasma concentrations of triglycerides and cholesterol increased during pregnancy ( $p < 0.0001$ ; Figure 6a,b). Both parameters were higher in maiden than mature ewes during the entire pregnancy. Triglycerides decreased in all sheep after lambing, and this decrease was greater in mature ewes (Figure 6a). In contrast, cholesterol decreased in mature but not maiden ewes (Figure 6b).



**Figure 6.** Plasma concentrations (mg/dL) of (a) triglycerides and (b) cholesterol in mature ewes (dashed line) and maiden ewes (dotted lines). The time  $\times$  age-group interaction was significant ( $p < 0.0001$ ). Asterisks indicate significant differences between age groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ).

Pregnancy rank did not significantly affect lipid metabolism during pregnancy in either mature or maiden sheep. After pregnancy, rank did not affect lipid metabolism in mature sheep. In maiden sheep, however, the concentrations of cholesterol and triglycerides were greater in multiple pregnancies than in single pregnancies ( $p = 0.03$  and  $p = 0.009$ , respectively).

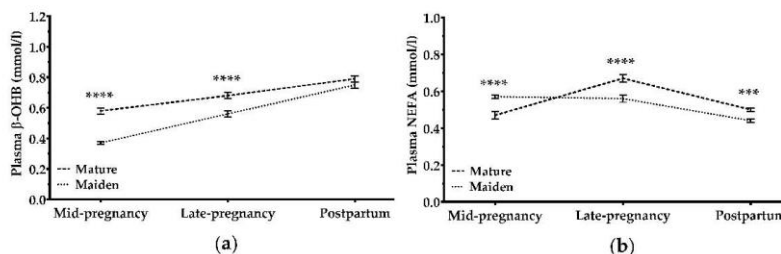
Plasma cholesterol concentrations were significantly influenced by BCS at mid-pregnancy (BCS-1) in mature sheep ( $p = 0.02$ ) and maiden sheep ( $p < 0.001$ ; Figure S4). However, the effects of BCS at late pregnancy (BCS-2) were found only in mature ewes: lower BCS-2 was related to lower cholesterol concentrations. Postpartum BCS showed an effect only in maiden sheep: fat maiden sheep showed significantly lower cholesterol levels ( $p > 0.0001$ ). Triglycerides decreased after pregnancy in all animals; this decrease was steeper in maiden sheep with single pregnancies than in maiden sheep with multiple pregnancies or in mature ewes of either pregnancy rank (Figure S4).

Plasma concentrations of triglycerides were affected by BCS-2, independently of age: ewes with higher BCS-2 showed higher plasma concentrations during pregnancy ( $p < 0.001$ ). After pregnancy, plasma triglycerides declined in all ewes; ewes with higher BCS-2 and BCS-3 were associated with a steeper decrease in plasma triglycerides postpartum than were thinner ewes (Figure S5).

### 3.2.4. $\beta$ -Hydroxybutyrate and Non-Esterified Fatty Acids

Concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -OHB) and non-esterified fatty acids (NEFA) in plasma changed in different ways during pregnancy. Plasma  $\beta$ -OHB levels increased during and after pregnancy in mature and maiden sheep; the increase was significantly steeper in maiden sheep ( $p < 0.0001$ ; Figure 7a). In mature ewes, NEFA levels increased during pregnancy and decreased postpartum; in maiden sheep, NEFA levels decreased steadily with pregnancy time and decreased further after pregnancy ( $p < 0.001$ ; Figure 7b).

Pregnancy rank and BCS had no significant effects on changes in  $\beta$ -OHB, with the following exceptions: (1) mature ewes with multiple pregnancies showed higher values of  $\beta$ -OHB at late pregnancy and postpartum than those with single pregnancies ( $p < 0.05$ ; Figure S6); (2) ewes with lower BCS-2 and BCS-3 showed a peak in  $\beta$ -OHB concentration at the end of gestation ( $p < 0.0001$ ; Figure S6). Maiden sheep were not affected by different BCS levels:  $\beta$ -OHB concentrations increased during and after pregnancy in all these animals (Figure S6).

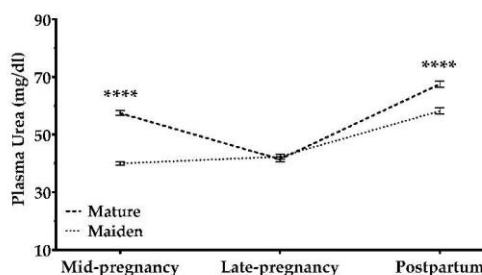


**Figure 7.** Concentration of (a)  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -OHB) and (b) non-esterified fatty acids (NEFA) in plasma (both mmol/L) in mature ewes (dashed line) and maiden sheep (dotted lines) throughout the study period. The time  $\times$  age-group interaction was significant ( $p < 0.0001$ ). Data are mean  $\pm$  S.E.M. Asterisks indicate significant differences between age groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ).

Plasma NEFA concentrations in mature ewes were affected by pregnancy rank: mature ewes with multiple pregnancies showed a steeper increase in late pregnancy than did those with single pregnancies (Figure S7). In contrast, BCS did not significantly affect NEFA levels at any time point with one exception: mature ewes with low BCS-2 showed higher levels of NEFA at mid-gestation than did those ewes with higher BCS-2 (Figure S7).

### 3.2.5. Urea

Plasma urea levels were affected by a significant interaction between sheep age and pregnancy stage ( $p < 0.0001$ ). In mature ewes, urea levels decreased throughout pregnancy and increased after pregnancy; maiden sheep showed a slight, constant increase during pregnancy and postpartum (Figure 8). This increase was steeper after lambing than between mid and late pregnancy.



**Figure 8.** Plasma urea concentrations (mg/dL) in mature ewes (dashed line) and maiden sheep (dotted lines) throughout the study period. Data are mean  $\pm$  S.E.M. The time  $\times$  age-group interaction was significant ( $p < 0.0001$ ). Asterisks indicate significant differences between age groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ).

Pregnancy rank affected plasma urea only in maiden sheep: ewes with single pregnancies showed a slight increase in urea levels during pregnancy, which then increased postpartum more sharply than those in maiden sheep with multiple pregnancies ( $p < 0.05$ ; Figure S8). In a similar way, BCS affected urea depending on an interaction between sheep age and pregnancy stage: significant effects were observed in maiden sheep at mid-pregnancy (BCS-1;  $p < 0.001$ ) and in mature ewes in late pregnancy (BCS-2;  $p < 0.05$ ). In contrast, postpartum BCS (BCS-3) affected mature and maiden sheep urea levels ( $p < 0.05$ ; Figure S8). Postpartum urea concentrations increased more steeply in maiden sheep that were

fatter at mid-pregnancy (BCS-1) and postpartum (BCS-3); postpartum urea concentrations in mature ewes fatter in late pregnancy (BCS-2) increased more steeply than those in thinner ewes (Figure S8).

### 3.3. BW, Body Size, and Metabolic Phenotype of Lambs

Lamb body weight and size depended on sex (Table 1): male lambs were heavier and larger than females at birth and 17 days old. Sex also affected metabolism: male lambs showed higher plasma concentrations of glucose and triglycerides and lower concentrations of cholesterol than did female lambs ( $p < 0.05$ ; Table 2).

**Table 2.** Morphometric measurements and metabolic status of lambs, stratified by sex.

Characteristic	Males ( $n = 255$ )	Females ( $n = 291$ )
Morphometric Characteristics		
Birth body weight, kg	$4.14 \pm 0.95^a$	$3.79 \pm 0.86^b$
Body weight, 17 days *, kg	$8.12 \pm 2.24$	$7.84 \pm 2.02$
Average daily weight gain, kg	$0.238 \pm 0.08$	$0.227 \pm 0.06$
Birth trunk length, cm	$29.41 \pm 2.37^e$	$29.01 \pm 2.44^f$
Trunk length 17 days *, cm	$37.46 \pm 4.17$	$37.49 \pm 3.86$
Birth BMI-1, kg/m <sup>2</sup>	$47.27 \pm 6.33^a$	$44.55 \pm 6.89^b$
BMI-2, 17 days *, kg/m <sup>2</sup>	$57.28 \pm 10.84^c$	$55.20 \pm 9.46^d$
Thoracic girth, 17 days *, cm	$44.38 \pm 4.45$	$44.32 \pm 3.95$
Abdominal girth, 17 days *, cm	$44.55 \pm 5.08$	$43.77 \pm 4.66$
Metabolic Indices at 17 Days		
Glucose, mg/dL	$123.1 \pm 26.56^e$	$120.3 \pm 23.54^f$
Lactate, mg/dL	$19.5 \pm 5.40$	$18.9 \pm 5.58$
Cholesterol, mg/dL	$92.9 \pm 18.98^e$	$96.5 \pm 20.06^f$
Triglycerides, mg/dL	$60.4 \pm 36.33^e$	$54.3 \pm 30.41^f$
$\beta$ -OHB, mmol/L	$0.134 \pm 0.07$	$0.134 \pm 0.06$
NEFA, mmol/L	$0.533 \pm 0.17$	$0.537 \pm 0.16$
Urea, mg/dL	$31.8 \pm 8.09$	$33.1 \pm 9.72$

\* Lamb age at the second measurement was  $17 \pm 5$  days; BMI: body mass index;  $\beta$ -OHB:  $\beta$ -hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids. Data are mean  $\pm$  S.D. Different superscripts within a row denote statistically significant differences ( $a \neq b, p < 0.0001$ ;  $c \neq d, p < 0.01$ ;  $e \neq f, p < 0.05$ ).

Birth weight affected the morphological and metabolic phenotype of lambs: low-birth-weight lambs showed lower NEFA and urea concentrations but higher cholesterol concentration in plasma than normal-birth-weight lambs (Table 3).

**Table 3.** Morphometric measurements and metabolic status of lambs, stratified by birth weight and sex.

Parameters	Normal Birth Weight ( $n = 455$ )	Low Birth Weight ( $n = 122$ )	Males with Low Birth Weight ( $n = 50$ )	Females with Low Birth Weight ( $n = 72$ )
Morphometric Characteristics				
Birth body weight, kg	$4.27 \pm 0.67^a$	$2.62 \pm 0.42^b$	$2.66 \pm 0.38$	$2.60 \pm 0.46$
Body weight, 17 days *, kg	$8.39 \pm 2.02^a$	$6.24 \pm 1.64^b$	$6.21 \pm 1.49$	$6.27 \pm 1.74$
Average daily weight gain, kg	$0.237 \pm 0.07^c$	$0.213 \pm 0.08^d$	$0.225 \pm 0.10$	$0.205 \pm 0.06$
Birth trunk length, cm	$29.9 \pm 1.73^a$	$26 \pm 2.04^b$	$25.9 \pm 1.81$	$26.1 \pm 2.21$
Trunk length 17 days *, cm	$38.4 \pm 3.49^a$	$33.6 \pm 3.67^b$	$32.8 \pm 3.08$	$34.2 \pm 3.93$
Birth BMI-1, kg/m <sup>2</sup>	$47.5 \pm 5.81^a$	$38.9 \pm 5.77^b$	$39.6 \pm 4.62$	$38.4 \pm 6.43$
BMI-2, 17 days *, kg/m <sup>2</sup>	$56.5 \pm 10.02$	$54.8 \pm 10.72$	$57.6 \pm 11.92^c$	$53.0 \pm 9.53^d$
Thoracic girth, 17 days *, cm	$45.08 \pm 3.93^a$	$40.83 \pm 3.59^b$	$40.52 \pm 3.56$	$41.03 \pm 3.62$
Abdominal girth, 17 days *, cm	$45.01 \pm 4.74^a$	$40.78 \pm 4.21^b$	$40.91 \pm 3.83$	$40.71 \pm 4.47$
Metabolic Indices at 17 Days				
Glucose, mg/dL	$122.3 \pm 25.93$	$118.4 \pm 22.86$	$121.9 \pm 20.00$	$116.2 \pm 23.28$
Lactate, mg/dL	$19.2 \pm 5.52$	$20.2 \pm 5.17$	$19.6 \pm 4.84$	$20.2 \pm 5.40$



Table 3. Cont.

Parameters	Normal Birth Weight (n = 455)	Low Birth Weight (n = 122)	Males with Low Birth Weight (n = 50)	Females with Low Birth Weight (n = 72)
Cholesterol, mg/dL	92.8 ± 17.99 <sup>c</sup>	98.1 ± 22.11 <sup>d</sup>	99.4 ± 21.56	97.3 ± 22.58
Triglycerides, mg/dL	56.6 ± 32.70	63.1 ± 37.78	65.7 ± 43.45	58.5 ± 33.79
β-OHB, mmol/L	0.135 ± 0.07	0.129 ± 0.06	0.134 ± 0.07	0.126 ± 0.06
NEFA, mmol/L	0.545 ± 0.17 <sup>c</sup>	0.482 ± 0.14 <sup>d</sup>	0.475 ± 0.14	0.486 ± 0.14
Urea, mg/dL	33.2 ± 8.76 <sup>e</sup>	31.2 ± 10.27 <sup>f</sup>	30.2 ± 5.98	31.9 ± 12.23

\* Lamb age at the second measurement was 17 ± 5 days. Low birth weight was defined as ≤ 3 kg. BMI: body mass index; β-OHB: β-hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids. Data are mean ± S.D. Different superscripts within a row denote statistically significant differences (a ≠ b,  $p < 0.0001$ ; c ≠ d,  $p < 0.01$ ; e ≠ f,  $p < 0.05$ ).

Maternal features also affected lamb birth weight and postnatal development (Table 4 and Tables S1 and S2): mature ewes gave birth to heavier lambs than did maiden ewes, and ewes with single pregnancies gave birth to heavier lambs than did ewes with multiple pregnancies. Lamb BW was affected by maternal age and pregnancy rank: significant interactions were observed for time × age group ( $p < 0.0001$ ) and for time × pregnancy rank ( $p = 0.04$ ; Table 3). By 17 days, BW was similar between lambs born as single or multiple pregnancies. Nevertheless, lambs born to sheep with multiple pregnancies showed only marginally greater average daily weight gain than did sheep with single pregnancies ( $p = 0.62$ ; Table 3).

Table 4. Morphometric measurements and metabolic status of lambs, stratified by maternal age and pregnancy rank.

Parameters	Lambs Born to		Lambs Born as	
	Mature Ewes (n = 317)	Maiden Sheep (n = 224)	Single Pregnancy (n = 163)	Multiple Pregnancy (n = 378)
Morphometric Characteristics				
Birth body weight, kg	4.25 ± 0.84 <sup>a</sup>	3.53 ± 0.87 <sup>b</sup>	4.28 ± 0.91 <sup>a</sup>	3.81 ± 0.89 <sup>b</sup>
Body weight, 17 days <sup>*</sup> , kg	8.80 ± 2.05 <sup>a</sup>	6.80 ± 1.63 <sup>b</sup>	8.06 ± 2.11	7.94 ± 2.14
Average daily weight gain, kg	0.244 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.215 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.229 ± 0.07	0.233 ± 0.07
Birth trunk length, cm	29.93 ± 2.04 <sup>a</sup>	28.16 ± 2.54 <sup>b</sup>	29.96 ± 2.14 <sup>a</sup>	28.87 ± 2.46 <sup>b</sup>
Trunk length 17 days <sup>*</sup> , cm	39.17 ± 3.62 <sup>a</sup>	35.05 ± 3.19 <sup>b</sup>	37.80 ± 3.91	37.32 ± 4.03
Birth BMI-1, kg/m <sup>2</sup>	47.15 ± 6.62 <sup>a</sup>	43.85 ± 6.04 <sup>b</sup>	47.27 ± 7.03 <sup>a</sup>	45.14 ± 6.55 <sup>b</sup>
BMI-2, 17 days <sup>*</sup> , kg/m <sup>2</sup>	56.95 ± 9.65 <sup>g</sup>	55.20 ± 10.85 <sup>h</sup>	56.00 ± 10.66	56.33 ± 10.00
Thoracic girth, 17 days <sup>*</sup> , cm	45.81 ± 3.96 <sup>a</sup>	42.11 ± 3.61 <sup>b</sup>	44.43 ± 4.23	44.22 ± 4.23
Abdominal girth, 17 days <sup>*</sup> , cm	45.87 ± 4.70 <sup>a</sup>	41.83 ± 4.22 <sup>b</sup>	44.71 ± 4.68	43.99 ± 5.01
Metabolic Indices at 17 Days				
Glucose, mg/dL	121.6 ± 24.83	121.6 ± 26.16	123.1 ± 29.43	120.9 ± 23.37
Lactate, mg/dL	18.8 ± 5.31 <sup>e</sup>	20.0 ± 5.53 <sup>f</sup>	19.2 ± 5.30	19.3 ± 5.49
Cholesterol, mg/dL	94.2 ± 18.04	93.4 ± 20.32	93.5 ± 18.42	94.0 ± 19.27
Triglycerides, mg/dL	54.7 ± 33.20 <sup>e</sup>	61.6 ± 34.50 <sup>f</sup>	54.4 ± 27.19	58.9 ± 36.38
β-OHB, mmol/L	0.132 ± 0.06	0.136 ± 0.07	0.131 ± 0.06	0.135 ± 0.07
NEFA, mmol/L	0.542 ± 0.17	0.518 ± 0.15	0.519 ± 0.15	0.538 ± 0.18
Urea, mg/dL	33.9 ± 9.97 <sup>c</sup>	31.3 ± 7.19 <sup>d</sup>	32.8 ± 7.70	32.9 ± 9.55

\* Lamb age at the second measurement was 17 ± 5 days. BMI: body mass index; β-OHB: β-hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids. Data are mean ± S.D. Different superscripts within a row denote statistically significant differences (a ≠ b,  $p < 0.0001$ ; c ≠ d,  $p < 0.001$ ; e ≠ f,  $p < 0.005$ ; g ≠ h,  $p < 0.01$ ).

Birth weight and birth trunk length were not affected by BCS at mid-pregnancy (BCS-1), but they were influenced by BCS in late pregnancy (BCS-2;  $p < 0.0001$ ; Table S2). Lambs born to sheep with high BCS-1 and BCS-2 were heavier and larger than those born to sheep with medium or low BCS-1 and BCS-2 ( $p < 0.001$  for BCS-1 and  $p < 0.0001$  for BCS-2). By 17 days, BCS-1 did not show a significant influence, but BCS-2 did ( $p < 0.0001$ ; Table S2).

Pregnancy rank did not significantly influence metabolic features of lambs. Similarly, maternal age did not significantly influence plasma concentrations of glucose, cholesterol, β-OHB, or NEFA

in lambs, except that lambs born to mature ewes showed lower triglycerides and lactate and higher urea concentrations (all  $p < 0.005$ ; Table 3). Lambs born to ewes with high BCS-1 and BCS-2 showed higher plasma  $\beta$ -OHB concentrations at 17 days than lambs born to ewes with medium or low BCS-1 ( $p < 0.005$ ) and BCS-2 ( $p < 0.05$ ; Table S2).

Possible correlations were explored among maternal and fetal metabolic features (Tables S3 and S4). Lamb birth weight positively correlated with maternal  $\beta$ -OHB ( $r = 0.212$   $p < 0.0001$ ) and urea ( $r = 0.248$   $p < 0.0001$ ) at mid-pregnancy, independently of maternal age and BCS. Among maiden sheep in late pregnancy, only triglyceride concentrations showed a positive, significant correlation with birth weight ( $r = 0.289$   $p < 0.0001$ ).

#### 4. Discussion

The present study suggests that the magnitude of the metabolic challenges imposed by pregnancy depends on maternal age and pregnancy rank in dairy ewes. Similar results have been reported in meat ewes [3,6,11]. Maternal BW increased in maiden and adult sheep during pregnancy, but maiden sheep lost BCS during pregnancy and after lambing, suggesting a loss of conceptus-free live weight. These results are consistent with previous work on pregnant maiden sheep [27,28]. On the study farm, the first mating was induced between 8 and 10 months of age, so mean age at first lambing was 14.4 months [29], which is an age when maiden sheep have to finalize their growth. These maiden sheep face the challenge of finishing their own growth [22], while also fulfilling fetal needs. Mature dairy ewes, in contrast, can cover fetal nutrient demand better than maiden sheep in late pregnancy, since they are already dried-off. After lambing, both maiden and mature sheep lost BW and BCS as a consequence of milk production, which reflects the high-yielding dairy condition of these animals in the study farm. These results support the idea that high-yielding dairy ewes begin lactation with a reduced intake capacity that leads to negative energy balance, as documented extensively in dairy ruminants [11,30].

Consistent with a greater metabolic challenge for maiden than for mature ewes, we found that fasting glucose in younger animals increased postpartum in tight association with BCS: only “fatter” maiden sheep with high BCS during pregnancy and after lambing showed increases in plasma glucose [31–33]. This may mean that fatter maiden animals did not regulate glucose levels as well as thinner maiden sheep. Nevertheless, glucose levels in all animals in our study were within the physiological range for sheep (32.42–79.99 mg/dl) [34–37]. This suggests that nutritional management on the study farm was appropriate.

Pregnancy rank did not influence maternal BW or BCS. Similarly, other studies failed to find a clear effect of multiple pregnancies on such parameters or on glucose levels during pregnancy and in the early postpartum period [38,39]. Our results may reflect that, under productive conditions, the Lacaune breed does not show high prolificacy, with an average of 1.6 lambs/lambing [40,41]. They may also reflect that nutrition management on the study farm fully satisfied the metabolic needs of the ewes.

Pregnancy rank did appear to affect the ability of our ewes to maintain stable glucose levels. The increase in glucose from pregnancy to the postpartum period was greater in sheep with multiple pregnancies than in those with single pregnancies, regardless of whether the sheep were maiden or mature. This greater availability of glucose may reflect an adaptation to the presence of multiple fetuses in the high-producing Lacaune dairy breed [41]. It may also result from the greater release of cortisol after multiple lambings previously observed in meat crossbred ewes [42]. Studies in Württemberg breeds have also reported higher levels of plasma glucose in milk-producing ewes than in non-lactating, pregnant ewes [43]. Whatever the cause, the greater glucose availability with multiple pregnancies likely helps ensure that the metabolic needs of all fetuses are met: risk of hypoglycemic stress is higher in ewes bearing twins than in ewes bearing single lambs [44].

The sheep in our study maintained constant concentrations of cholesterol and triglycerides during pregnancy. After lambing, both mature and maiden sheep showed a decrease in triglycerides. Cholesterol levels after lambing depended on maternal age: they decreased in mature ewes but

increased in maiden sheep, with a steeper increase in maiden sheep with multiple pregnancies than in maiden sheep with single pregnancies. However, studies in other meat breeds have reported no significant changes in plasma lipid metabolites of ewes during pregnancy, and even a decrease in late pregnancy and after lambing [43,45]. Triglycerides in the blood are fuel sources [19,46] that are likely consumed when energy requirements increase, such as in late pregnancy. This would explain the postpartum decrease. Our results suggest that high-yielding maiden dairy sheep rely less on lipid resources for energy than do mature sheep.

Maternal lipid metabolism was affected by their BCS: sheep with higher BCS during pregnancy and postpartum showed greater plasma concentrations of cholesterol and triglycerides than did sheep with lower BCS, although these values were within physiological levels for all animals, cholesterol (from  $65.01 \pm 6.78$  to  $89.01 \pm 7.90$  mg/dL) and triglycerides ( $17.7$ – $25.66$  mg/dL) [37,47]. Consistently, a study in dairy cows found that adequate BCS at the end of pregnancy was associated with higher levels of metabolites [48], and another study found similar results in non-pregnant ewes [13]. At least one study has reported no significant variation in glucose or cholesterol levels of ewes with different BCS [49], but those results are difficult to compare with ours, since they are based on samples taken from ewes after mating as well as in late pregnancy. When interpreting our results and comparing them with those from other studies, it is important to keep in mind that most of our sheep had appropriate BCS throughout the observation period, with a mean BCS-1 of  $2.56 \pm 0.44$ , a mean BCS-2 of  $2.69 \pm 0.52$ , and a mean BCS-3 =  $2.45 \pm 0.46$ , which likely explains why plasma lipid concentrations were always within physiological levels [37,47].

In contrast to lipid parameters, plasma lactate concentrations decreased with pregnancy stage and after pregnancy in all animals, independently of maternal age. The decrease was steeper in ewes with single pregnancies than in those with multiple pregnancies. Our results with lactate and glucose levels further support the idea that nutrition management in our cohort was appropriate, since adequately fed ewes show a precarious carbohydrate metabolism during late pregnancy and early lactation [50]. Deficiencies in carbohydrate metabolism was more severe among the thinnest ewes (based on BCS in late pregnancy); BCS-2 interacted significantly with lactate concentration  $\times$  time.

Animals may catabolize proteins in order to cover nutrient demand, which translates to increases in urea levels in plasma and milk [51]. Interestingly, the increase in plasma urea concentrations occurred after lambing and not in late pregnancy. This is similar to results observed in meat ewes [38] and to a report of higher serum concentrations of urea and total protein during lactation than in late pregnancy in ewes [43]. BCS appears to influence protein metabolism after lambing: maiden and mature sheep with higher BCS showed a steeper plasma urea increase postpartum than did thinner animals. Similar results were observed in dairy cows: higher BCS at calving was associated with higher urea levels postpartum [52–54].

Overall, our results indicate good adaptation by maiden and mature ewes to cover nutrient demands during pregnancy, even in multiple pregnancies. Our study also examined how ewes responded to the metabolic demands posed by lactation. Early lactation creates negative energy balance [55,56], which we confirmed in our sheep by assessing concentrations of  $\beta$ -OHB and NEFAs.  $\beta$ -OHB concentration increased with pregnancy time and after lambing in maiden and mature ewes, although younger animals showed a steeper increase. In contrast, pregnancy rank did not affect  $\beta$ -OHB concentrations over time. A study in meat ewes also reported an increase in  $\beta$ -OHB concentrations during pregnancy [38]. On the other hand, their results differed from ours in that they detected higher  $\beta$ -OHB levels in twin-bearing ewes than in single-bearing animals, and they found that  $\beta$ -OHB levels decreased one month after lambing. These differences may reflect that the ewes in that study were not dairy sheep; our high-producing dairy sheep were likely under greater metabolic challenge than those sheep.

We observed that only mature ewes with a low BCS in late pregnancy showed a peak in  $\beta$ -OHB levels in late pregnancy and a steep decrease after lambing. This may mean that these ewes are more challenged during the last phase of fetal growth than during lactation. This may be also due to the fact that these ewes gave slightly lower levels of milk after lambing ( $1.41 \pm 0.53$  L/d in thin ewes vs.



2.28 ± 0.73 L/d in fat ewes), in order to decrease their global metabolic challenge and to be able to cover fetal demands adequately.

In our study, NEFA concentrations in maiden sheep decreased over time, while the levels in mature sheep increased during pregnancy and then decreased after lambing. NEFAs reflect the level of lipid catabolism, and their concentration increases when glucose metabolism is deficient. After lambing, a simultaneous decrease in NEFA levels and an increase in  $\beta$ -OHB levels signal the end of a negative energy balance and lipomobilization [57,58]. We found this lipomobilization in late pregnancy to be greater in sheep bearing twins than in those with single pregnancies, as previously reported in New Zealand meat breeds [6]. Nevertheless,  $\beta$ -OHB and NEFA levels in all our animals remained within physiological levels (0.36–0.80 and 0.18–0.68 mmol/L, respectively) [30,59–61], which further corroborates that the nutritional management of our flock was appropriate.

Lamb birth weights were within the physiological range for the Lacaune breed ( $3.90 \pm 0.7$  and  $4.6 \pm 0.2$  for female and male lambs, respectively) [62,63]. Males were slightly heavier than females at birth, consistent with previous work [64], but this difference disappeared 17 days later. Metabolic indices for our lambs were always within physiological values and were not affected by lamb sex, except that glucose and triglycerides were higher in males, while cholesterol was higher in females. Given the importance of adequate birth weight on productive performance, we specifically examined phenotypic and metabolic characteristics of lambs with low birth weight (<3 kg). These lambs showed a lower average daily weight gain, as previously reported in meat breeds [65]. At the same time, the male sex could partially overcome the disadvantage of low birth weight: male lambs with a low birth weight increased more in BMI after birth, reaching values similar to those in lambs with normal birth weight, suggesting higher adiposity. The BMI of female lambs with low birth weight did not catch up to their normal-birth-weight counterparts. The metabolic profile was similar between lambs with a normal or low birth weight, except that low-birth-weight lambs showed lower NEFA and urea levels. All these results are consistent with previous work in meat crossbred lambs [66] and may reflect a lower catabolism in low-birth-weight animals because of their smaller body fat and protein reserves [65,67].

Lamb birth weight in our study was affected by maternal age and pregnancy rank: lambs were lighter when the mother was a maiden ewe or had a multiple pregnancy. These results are consistent with work in several meat breeds (Finnsheep, Dorset, Rambouillet, Suffolk, and Targhee) [68]. Maternal metabolic indicators showed little effect on lamb phenotype, presumably because maternal indicators were always within physiological ranges. Nevertheless, higher maternal  $\beta$ -OHB levels mid-way through a multiple pregnancy were associated with higher lamb birth weight. This might reflect that sheep bearing twins can better mobilize energy resources to supply more nutrients to the fetus.

Maternal age affected early postnatal development: lambs born to mature ewes showed a higher average daily weight gain than did lambs born to maiden sheep, confirming results from previous studies in meat ewes [69]. Twin lambs showed a lighter birth weight than single lambs, but they later “caught up” in BW and size. This catching up was less complete in the case of lambs born to maiden sheep with multiple pregnancies, as observed in meat breeds [69]. On the other hand, lamb metabolic indicators were not influenced by maternal age or pregnancy rank, except that lactate and triglycerides were higher in lambs born to maiden sheep with multiple pregnancies than did those lambs born to mature ewes with multiple pregnancies, and urea was higher in lambs from mature ewes. These results suggest greater metabolic stress in lighter lambs, which should be explored in future work.

In our animals, maternal BCS influenced the lambs primarily in that fatter ewes gave birth to slightly heavier lambs. Heavier ewes gave birth to lambs with slightly more active lipid metabolism (reflected in greater  $\beta$ -OHB concentrations), but other metabolite levels were similar between lambs from heavier or lighter ewes. Studies in Sanjabi ewes have revealed a more extensive influence of maternal BCS on offspring under traditional management conditions [49]. Our observation of milder influence may reflect that the BCS of all ewes in our study were within physiological ranges.

## 5. Conclusions

In high-yielding Lacaune dairy sheep, appropriate nutritional strategies can maintain maternal BW, BCS, and metabolic profiles within physiological ranges during pregnancy and after lambing, independently of age and pregnancy rank. While pregnancy and lactation place high nutritional and metabolic demands on all ewes, our results suggest that maiden sheep bearing multiple lambs face a greater challenge than maiden sheep with single pregnancies or mature sheep with single or multiple pregnancies. Lamb phenotype and metabolic indices were within physiological ranges almost independently of maternal condition. These results highlight the importance and power of proper nutrition management in dairy flocks.

**Supplementary Materials:** Figures S1–S8 and Tables S1–S4 are available online at <http://www.mdpi.com/2076-2615/9/4/122/s1>. **Figure S1:** Body weight (in kg; top panels a, b, and c) and body condition score (BCS; bottom panels d, e, and f) are shown for all ewes (left panels, a and d), mature ewes (central panels, b and e), and maiden sheep (right panels, c and f) throughout the study period. Animals were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □). Data are mean ± S.E.M. When significant, the time × pregnancy rank interaction is represented in panels by an upper horizontal line and capital letters indicating the significance level (A:  $p < 0.001$ ; B:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between single or multiple pregnancies at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S2:** Plasma glucose concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Ewes were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), at late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS ≤ 2, “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS ≥ 3. Data are mean ± S.E.M. When significant, interactions of time × pregnancy rank or time × BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.01$ ; D:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S3:** Plasma lactate concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), in late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS ≤ 2, “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS ≥ 3. Data are mean ± S.E.M. When significant, the interactions of time × pregnancy rank or time × BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.01$ ; D:  $p < 0.05$ ; tendency). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S4:** Plasma cholesterol concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), at late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS level was “Thin” (▼) for sheep with a BCS ≤ 2, “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS ≥ 3. Data are mean ± S.E.M. When significant, the interactions of time × pregnancy rank or time × BCS level are represented in each panel by an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.01$ ; D:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S5:** Plasma triglyceride concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), at late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS ≤ 2, “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS ≥ 3. Data are mean ± S.E.M. When significant, the interactions of time × pregnancy rank or time × BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.001$ ; B:  $p < 0.01$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S6:** Concentrations of β-hydroxybutyrate (β-OHB) in plasma (mmol/l) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), at late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS ≤ 2, “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS ≥ 3. Data are mean ± S.E.M. When significant, the interactions of time × pregnancy rank or time × BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ). Asterisks indicate



significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S7:** Concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA) in plasma (mmol/l) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), at late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS  $\leq 2$ , “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS  $\geq 3$ . Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the interactions of time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel by an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; b: tendency). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Figure S8:** Plasma urea concentration (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g, and j), mature ewes (central panels column, b, e, h, and k), and maiden sheep (right panels column, c, f, i, and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single: ○; multiple: □; top row of panels a, b, and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e, and f), at late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h, and i), and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k, and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS  $\leq 2$ , “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with a BCS  $\geq 3$ . When significant, the interactions of time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.05$ ; c: tendency). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ). **Table S1:** Morphometric measurements and metabolic status of lambs, stratified by maternal age and pregnancy rank. **Table S2:** Morphometric measurements and metabolic status of lambs, stratified by maternal BCS in mid- or late pregnancy. **Table S3:** Pearson correlation coefficients between lamb birth weight and maternal metabolic indices at mid-gestation, with mothers classified by maternal age, pregnancy rank, maternal BCS at mid-pregnancy, and BCS in late pregnancy. **Table S4:** Pearson correlation coefficients between lamb birth weight and maternal metabolic indices in late gestation, with mothers classified by maternal age, pregnancy rank, maternal BCS at mid-pregnancy, and BCS in late pregnancy.

**Author Contributions:** Conceptualization: A.G.B. and S.A. Methods: all authors. Software: J.L.P.P., F.H., and S.A. Validation: F.H., A.G.B., and S.A. Data analysis: J.L.P.P., A.H.M., L.T.R., M.V.S.F., C.G.C., M.V.G., P.F., E.C., M.M., and F.H. Investigation: J.V.G.M., A.G.B., and S.A. Resources: F.H., J.V.G.M., A.G.B., and S.A. Data curation: J.L.P.P., A.H.M., L.T.R., M.V.S.F., C.G.C., and M.V.G. Drafting of the manuscript: J.L.P.P., A.G.B., and S.A. Review and editing of the manuscript: all authors. Figure preparation: J.L.P.P., A.G.B., and S.A. Supervision: F.H., J.V.G.M., A.G.B., and S.A. Project administration: F.H., J.V.G.M., A.G.B., and S.A.

**Funding:** This research received no external funding.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank the farm staff for their assistance with animal sampling and Pedro Cuesta and Iagoba Cano (Research Support Center of the UCM) for statistical processing of the data.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## References

- Swali, A.; Wathes, D.C. Influence of Primiparity on Size at Birth, Growth, the Somatotrophic Axis and Fertility in Dairy Heifers. *Anim. Reprod. Sci.* **2007**, *102*, 122–136. [CrossRef]
- Piccione, G.; Caola, G.; Giannetto, C.; Grasso, F.; Calanni Runzo, S.; Zumbo, A.; Pennisi, P. Selected Biochemical Serum Parameters in Ewes during Pregnancy, Post-Parturition, Lactation and Dry Period. *Anim. Sci. Pap. Rep.* **2009**, *27*, 321–330.
- Mohammadi, V.; Anassori, E.; Jafari, S. Measure of Energy Related Biochemical Metabolites Changes during Peri-Partum Period in Makouei Breed Sheep. *Vet. Res. Forum Int. Q. J.* **2016**, *7*, 35–39.
- Bell, A.W. Regulation of Organic Nutrient Metabolism during Transition from Late Pregnancy to Early Lactation. *J. Anim. Sci.* **1995**, *73*, 2804–2819. [CrossRef]
- Joy, M.; Ripoll-Bosch, R.; Sanz, A.; Molino, F.; Blasco, I.; Álvarez-Rodríguez, J. Effects of Concentrate Supplementation on Forage Intake, Metabolic Profile and Milk Fatty Acid Composition of Unselected Ewes Raising Lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2014**, *187*, 19–29. [CrossRef]
- Hu, G.; Mccutcheon, S.N.; Parker, W.J.; Walsh, P.A. Blood Metabolite Levels in Late Pregnant Ewes as Indicators of Their Nutritional Status. *N. Z. J. Agric. Res.* **1990**, *33*, 63–68. [CrossRef]
- Russel, A.J.F. Means of Assessing the Adequacy of Nutrition of Pregnant Ewes. *Livest. Prod. Sci.* **1984**, *11*, 429–436. [CrossRef]
- Sanson, D.W.; West, T.R.; Tatman, W.R.; Riley, M.L.; Judkins, M.B.; Moss, G.E. Relationship of Body Composition of Mature Ewes with Condition Score and Body Weight. *J. Anim. Sci.* **1993**, *71*, 1112–1116. [CrossRef]
- Bell, A.W.; Bauman, D.E. Adaptations of Glucose Metabolism during Pregnancy and Lactation. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* **1997**, *2*, 265–278. [CrossRef] [PubMed]

10. Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Faulconnier, Y.; Bonnet, M.; Rouel, J.; Bocquier, F. Adipose Tissue Metabolism and Its Role in Adaptations to Undernutrition in Ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* **2000**, *59*, 127–134. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Vernon, G.R.; Clegg, A.R.; Flint, J.D. Metabolism of Sheep Adipose Tissue during Pregnancy and Lactation. Adaptation and Regulation. *Biochem. J.* **1981**, *200*, 307–314. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Holtenius, P.; Holtenius, K. New Aspects of Ketone Bodies in Energy Metabolism of Dairy Cows: A Review. *J. Vet. Med. Ser. A* **1996**, *43*, 579–587. [\[CrossRef\]](#)
13. Caldeira, R.M.; Belo, A.T.; Santos, C.C.; Vazques, M.I.; Portugal, A.V. The Effect of Body Condition Score on Blood Metabolites and Hormonal Profiles in Ewes. *Small Rumin. Res.* **2007**, *68*, 233–241. [\[CrossRef\]](#)
14. Bauman, D.E.; Bruce Currie, W. Partitioning of Nutrients during Pregnancy and Lactation: A Review of Mechanisms Involving Homeostasis and Homeorhesis. *J. Dairy Sci.* **1980**, *63*, 1514–1529. [\[CrossRef\]](#)
15. Karen, A.M.; Kovács, P.; Beckers, J.F.; De Sousa, N.M.; Szenci, O. Plasma Urea Nitrogen in Relation to Pregnancy Rate in Dairy Sheep. *Anim. Reprod. Sci.* **2011**, *124*, 69–72. [\[CrossRef\]](#)
16. González-Reco, O.; Ugarte, E.; Bach, A. Trans-Generational Effect of Maternal Lactation during Pregnancy: A Holstein Cow Model. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e51816. [\[CrossRef\]](#)
17. Johnston, L.B.; Clark, A.J.L.; Savage, M.O. Genetic Factors Contributing to Birth Weight. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2002**, *86*, 2F–3F. [\[CrossRef\]](#)
18. Robinson, J.J.; Rooke, J.; McEvoy, T.G. Nutrition for Conception and Pregnancy. In *Sheep Nutrition*; Free, M., Dove, H., Eds.; CSIRO: Collingwood, ON, Canada, 2002; pp. 189–211.
19. Caton, J.S.; Hess, B.W. Maternal Plane of Nutrition: Impacts on Fetal Outcomes and Postnatal Offspring Responses. In Proceedings of the 4th Grazing Livestock Nutrition Conference, Estes Park, CO, Canada, 9–10 July 2010; Hess, B.W., DelCurto, T., Bowman, J.G.P., Waterman, R.C., Eds.; pp. 104–122.
20. Barker, D.J.P. The Developmental Origins of Well Being. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **2004**, *359*, 1359–1366. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Gluckman, P.D.; Hanson, M.A. Maternal Constraint of Fetal Growth and Its Consequences. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **2004**, *9*, 419–425. [\[CrossRef\]](#)
22. Gardener, D.S.; Buttery, P.L.; Daniel, Z.; Symonds, M.E. Factors Affecting Birth Weight in Sheep: Maternal Environment. *Reproduction* **2007**, *133*, 297–307. [\[CrossRef\]](#)
23. Russel, A.J.F.; Doney, J.M.; Gunn, R.G. Subjective Assessment of Body Fat in Live Sheep. *J. Agric. Sci.* **1969**, *72*, 451–454. [\[CrossRef\]](#)
24. Blomberg, L.A.; Schreier, L.L.; David Guthrie, H.; Sample, G.L.; Vallet, J.; Caperna, T.; Ramsay, T. The Effect of Intrauterine Growth Retardation on the Expression of Developmental Factors in Porcine Placenta Subsequent to the Initiation of Placentation. *Placenta* **2010**, *31*, 549–552. [\[CrossRef\]](#)
25. Vázquez-Gómez, M.; García-Contreras, C.; Torres-Rovira, L.; Astiz, S.; Óvilo, C.; González-Bulnes, A.; Isabel, B. Maternal Undernutrition and Offspring Sex Determine Birth-Weight, Postnatal Development and Meat Characteristics in Traditional Swine Breeds. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2018**, *9*, 27. [\[CrossRef\]](#)
26. Goodman, E.; Hinden, B.R.; Khandelwal, S. Accuracy of Teen and Parental Reports of Obesity and Body Mass Index. *Pediatrics* **2000**, *106 Pt 1*, 52–58. [\[CrossRef\]](#)
27. Luther, J.; Aitken, R.; Milne, J.; Matsuzaki, M.; Reynolds, L.; Redmer, D.; Wallace, J. Maternal and Fetal Growth, Body Composition, Endocrinology, and Metabolic Status in Undernourished Adolescent Sheep. *Biol. Reprod.* **2007**, *77*, 343–350. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Remond, B.; Cisse, M.; Ollier, A.; Chilliard, Y. Slow Release Somatotropin in Dairy Heifers and Cows Fed Two Levels of Energy Concentrate. 1. Performance and Body Condition. *J. Dairy Sci.* **1991**, *74*, 1370–1381. [\[CrossRef\]](#)
29. Elvira, L.; Hernandez, F.; Cuesta, P.; Cano, S.; Gonzalez-Martin, J.V.; Astiz, S. Factors Affecting the Lactation Curves of Intensively Managed Sheep Based on a Clustering Approach. *J. Dairy Res.* **2013**, *80*, 439–447. [\[CrossRef\]](#)
30. Harmeyer, J.; Schlumbohm, C. Pregnancy Impairs Ketone Body Disposal in Late Gestating Ewes: Implications for Onset of Pregnancy Toxaemia. *Res. Vet. Sci.* **2006**, *81*, 254–264. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Kappel, L.C.; Ingraham, R.H.; Morgan, E.B.; Zeringue, L.; Wilson, D.; Babcock, D.K. Relationship between Fertility and Blood Glucose and Cholesterol Concentrations in Holstein Cows. *Am. J. Vet. Res.* **1984**, *45*, 2607–2612.
32. Vizcarra, J.A.; Wettemann, R.P.; Spitzer, J.C.; Morrison, D.G. Body Condition at Parturition and Postpartum Weight Gain Influence Luteal Activity and Concentrations of Glucose, Insulin, and Nonesterified Fatty Acids in Plasma of Primiparous Beef Cows 1,2. *J. Anim. Sci.* **1998**, *76*, 927–936. [\[CrossRef\]](#)



33. Taylor, V.J.; Beever, D.E.; Bryant, M.J.; Wathes, D.C. Metabolic Profiles and Progesterone Cycles in First Lactation Dairy Cows. *Theriogenology* **2003**, *59*, 1661–1677. [\[CrossRef\]](#)
34. Kaufman, C.F.; Bergman, E.N. Renal Ketone Body Metabolism and Gluconeogenesis in Normal and Hypoglycemic Sheep. *Am. J. Physiol.* **1974**, *226*, 827–832. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Antunovic, Z.; Novoselec, J.; Speranda, M.; Steiner, Z.; Cavar, S. Monitoring of Blood Metabolic Profile and Milk Quality of Ewes during Lactation in Organic Farming. *Mljekarstvo J. Dairy Prod. Process. Improv.* **2017**, *67*, 243–252. [\[CrossRef\]](#)
36. Alonso, A.; Teresa, R.D.E.; Garcia, M.; Gonzalez, R.; Vallejo, M. The Effects of Age and Reproductive Status on Serum and Blood Parameters in Merino Breed Sheep. *J. Vet. Med.* **1997**, *44*, 223–231. [\[CrossRef\]](#)
37. Kassim, W.Y.; Al-Hellou, M.F. Effect of Geographic Location and Age on Levels of Some Biochemical Parameters of Ewes in Southern of Iraq. *J. Biosci. Med.* **2018**, *6*, 21–29. [\[CrossRef\]](#)
38. Seidel, H.; Novotny, J.; Kovac, G. Selected Biochemical Indices in Sheep during Pregnancy and after Parturition. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* **2006**, *50*, 167–170.
39. Moallem, U.; Rozov, A.; Gootwine, E.; Honig, H. Plasma Concentrations of Key Metabolites and Insulin in Late-Pregnant Ewes Carrying 1 to 5 Fetuses. *J. Anim. Sci.* **2015**, *90*, 318–324. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Pesantez-Pacheco, J.L.; Torres-Rovira, L.; Hernandez, F.; Sanz-Fernandez, M.V.; Villalobos, N.P.; Heras-Molina, A.; Garcia-Contreras, C.; Vazquez Gomez, M.; Martinez-Ros, P.; Gonzalez-Martin, J.V.; et al. Efficiency and Demographics of a High-Yield Dairy Ewe Farm with Two Managing Systems Involving Five or 10 Lambings per Year. *Animal* **2018**, *12*, 2181–2190. [\[CrossRef\]](#)
41. Abecia, J.A.; Palacios, C. Ewes Giving Birth to Female Lambs Produce More Milk than Ewes Giving Birth to Male Lambs. *Ital. J. Anim. Sci.* **2018**, *17*, 736–739. [\[CrossRef\]](#)
42. Schmitt, E.; Maffi, A.S.; Raimondo, R.F.S.; Lima, M.E.; Hoffmann, D.A.C.; Farofa, T.S.; Montagner, P.; Rincon, J.A.A.; Del Pino, F.A.B.; Correa, M.N. Energetic Metabolic Profile of Ewes Presenting Low Body Condition Score Induced to Subclinical Hypocalcemia in Early Postpartum. *Austral J. Vet. Sci.* **2018**, *50*, 15–20. [\[CrossRef\]](#)
43. Antunovi, Z.; Sencic, D.; Šperanda, M.; Likar, B. Influence of the Season and the Reproductive Status of Ewes on Blood Parameters. *Small Rumin. Res.* **2002**, *45*, 39–44. [\[CrossRef\]](#)
44. Schlumbohm, C.; Harmeyer, J. Twin-Pregnancy Increases Susceptibility of Ewes to Hypoglycaemic Stress and Pregnancy Toxaemia. *Res. Vet. Sci.* **2008**, *84*, 286–299. [\[CrossRef\]](#)
45. Haffaf, S.; Benallou, B. Changes in Energetic Profile of Pregnant Ewes in Relation with the Composition of the Fetal Fluids. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2016**, *6*, 256–258. [\[CrossRef\]](#)
46. Pinent, M.; Hackl, H.; Rainer Burkard, T.; Prokesch, A.; Papak, C.; Scheideler, M.; Hammerle, G.; Zechner, R.; Trajanoski, Z.; Gertrude Strauss, J. Differential Transcriptional Modulation of Biological Processes in Adipocyte Triglyceride Lipase and Hormone-Sensitive Lipase-Deficient Mice. *Genomics* **2008**, *92*, 26–32. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Novoselec, J.; Speranda, M.; Klir, Z.; Mioc, B.; Steiner, Z.; Antunovic, Z. Blood Biochemical Indicators and Concentration of Thyroid Hormones in Heavily Pregnant and Lactating Ewes Depending on Selenium Supplementation. *Acta Vet. Brno* **2017**, *86*, 353–363. [\[CrossRef\]](#)
48. Thomas, P.C.; Chamberlain, D.G.; Martin, P.A.; Robertson, S. Dietary Energy Intake and Milk Yield and Composition in Dairy Cows. In Proceedings of the 10th International Symposium on Energy Metabolism, Airlie, VA, USA, 12–17 September 1985; Moe, P.W., Tyrell, F.H., Reynolds, P.W., Eds.; pp. 17–20.
49. Jalilian, M.T.; Moeini, M.M. The Effect of Body Condition Score and Body Weight of Sanjabi Ewes on Immune System, Productive and Reproductive Performance. *Acta Agric. Slov.* **2013**, *102*, 99–106. [\[CrossRef\]](#)
50. Baird, G.D.; Van Der Walt, J.G.; Bergman, E.N. Whole Body Metabolism of Glucose and Lactate in Productive Sheep and Cows. *Br. J. Nutr.* **1983**, *50*, 249–265. [\[CrossRef\]](#)
51. Canfield, R.W.; Sniffen, C.J.; Butler, W.R. Effects of Excess Degradable Protein on Postpartum Reproduction and Energy Balance in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* **1990**, *73*, 2342–2349. [\[CrossRef\]](#)
52. Karapehliyan, M.; Atakisi, E.; Atakisi, O.; Yucaiyurt, R.; Pancarci, S.M. Blood Biochemical Parameters during the Lactation and Dry Period in Tuj Ewes. *Small Rumin. Res.* **2007**, *73*, 267–271. [\[CrossRef\]](#)
53. Kumar, H.; Nakao, T.; Suzuki, T.; Akita, M.; Higaki, T. Relationships between Body Condition Score, Body Weight, and Some Nutritional Parameters in Plasma and Resumption of Ovarian Cyclicity Postpartum during Pre-Service Period in High-Producing Dairy Cows in a Subtropical Region in Japan. *Theriogenology* **2005**, *64*, 855–866. [\[CrossRef\]](#)



54. Holtenius, K.; Akena, S.; Delavaud, C.; Chilliard, Y. Effects of Feeding Intensity during the Dry Period. 2. Metabolic and Hormonal Responses. *J. Anim. Sci.* **2003**, *86*, 883–891. [[CrossRef](#)]
55. Lacetera, N.; Bernabucci, U.; Ronchi, B.; Nardone, A. Effects of Subclinical Pregnancy Toxemia on Immune Responses in Sheep. *Am. J. Vet. Res.* **2001**, *62*, 1020–1024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. González-García, E.; Tesniere, A.; Camous, S.; Bocquier, F.; Barillet, F.; Hassoun, P. The Effects of Parity, Litter Size, Physiological State, and Milking Frequency on the Metabolic Profile of Lacaune Dairy Ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* **2015**, *50*, 32–44. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Douglas, G.N.; Overton, T.R.; Bateman, H.G.; Dann, H.M.; Drackley, J.K. Prepartal Plane of Nutrition, Regardless of Dietary Energy Source, Affects Periparturient Metabolism and Dry Matter Intake in Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* **2006**, *89*, 2141–2157. [[CrossRef](#)]
58. Butler, S.T.; Pelton, S.H.; Butler, W.R. Energy Balance, Metabolic Status, and the First Postpartum Ovarian Follicle Wave in Cows Administered Propylene Glycol. *J. Dairy Sci.* **2006**, *89*, 2938–2951. [[CrossRef](#)]
59. Firat, A.; Ozpınar, A. Metabolic Profile of Pre-Pregnancy, Pregnancy and Early Lactation in Multiple Lambing Sakiz Ewes. 2. Changes in Plasma Progesterone, Estradiol-17 $\beta$  and Cholesterol Levels. *Anim. Nutr. Metab.* **2002**, *46*, 57–61. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Cal-Pereyra, L.; Benech, A.; González-Montaña, J.R.; Acosta-Dibarrat, J.; Da Silva, S.; Martin, A. Changes in the Metabolic Profile of Pregnant Ewes to an Acute Feed Restriction in Late Gestation. *N. Z. Vet. J.* **2015**, *63*, 141–146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Durak, M.H.; Altın, A. Effect of Energy Deficiency during Late Pregnancy in Chios Ewes on Free Fatty Acids,  $\beta$ -Hydroxybutyrate and Urea Metabolites. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* **2006**, *30*, 497–502.
62. Barillet, M.C.; Such, X.; Bocquier, F.; Caja, G. Nutrition, Alimentation et Élevage Des Brebis Laitières. Maîtrise de Facteurs de Production Pour Réduire Les Coûts et Améliorer La Qualité Des Produits. In *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches: Série B. Etudes et Recherches*; CIHEAM: Zaragoza, Spain, 2002; pp. 57–71.
63. Thomas, D.L.; Berger, Y.M.; McKusick, B.C.; Mikolayunas, C.M. Dairy Sheep Production Research at the University of Wisconsin-Madison, USA—A Review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2014**, *5*, 22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Berry, M.J.; Jaquiere, A.L.; Oliver, M.H.; Harding, J.E.; Bloomfield, F.H. Neonatal Milk Supplementation in Lambs Has Persistent Effects on Growth and Metabolic Function That Differ by Sex and Gestational Age. *Br. J. Nutr.* **2016**, *116*, 1912–1925. [[CrossRef](#)]
65. Ramos Nieves, J.M.; Bernal Santos, G.; Faciola, A.; Van Ambrugh, M.E.; Boisclair, Y.R. Effects of Birth Weight and Dietary Caloric Density on Growth, Voluntary Intake and Body Composition of Newborn Lambs. In *Energy and Protein Metabolism and Nutrition, Proceedings of the 3rd EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition, Parma, Italy, 6–10 September 2010*; Crovetto Mateo, G., Ed.; Wageningen Academic: Parma, Italy, 2010; pp. 215–216.
66. Greenwood, P.L.; Bell, A.W. Consequences of Intrauterine Growth Retardation for Postnatal Growth, Metabolism and Pathophysiology. *Reprod. Suppl.* **2003**, *61*, 195–206. [[PubMed](#)]
67. Thorn, S.R.; Rozance, P.J.; Brown, L.D.; Hay, W.W. The Intrauterine Growth Restriction Phenotype: Fetal Adaptations and Potential Implications for Later Life Insulin Resistance and Diabetes. *Semin. Reprod. Med.* **2011**, *29*, 225–236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Gama, L.T.; Dickerson, G.E.; Young, L.D.; Leymaster, K.A. Effects of Breed, Heterosis, Age of Dam, Litter Size, and Birth Weight on Lamb Mortality. *J. Anim. Sci.* **1991**, *69*, 2727–2743. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Greenwood, P.L.; Hunt, A.S.; Hermanson, J.W.; Bell, A.W. Effects of Birth Weight and Postnatal Nutrition on Neonatal Sheep: I. Body Growth and Composition, and Some Aspects of Energetic Efficiency. *J. Anim. Sci.* **1998**, *76*, 2354–2367. [[CrossRef](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

4.4 Estudio II: Influencia de factores maternos sobre diferentes aspectos productivos y metabólicos de la propia oveja y su descendencia.

4.4.1 Desafío metabólico materno durante la gestación y lactación y su asociación con la productividad y el fenotipo de la descendencia en ovejas de alta producción lechera.

Este estudio ha sido publicado en mayo de 2019

Maternal metabolic demands caused by pregnancy and lactation: association with productivity and offspring phenotype in high-yielding dairy ewes.

José Luis Pesántez Pacheco, Ana Heras Molina, Laura Torres Rovira, María Victoria Sanz Fernández, Consolación García Contreras, Marta Vázquez Gómez, Pablo Feyjoo, Elisa Cáceres, Millán Frías Mateo, Fernando Hernández, Paula Martínez Ros, Juan Vicente González-Martín, Antonio González-Bulnes, y Susana Astiz.

Animals 2019, 9(6), 295; doi.org/10.3390/ani9060295

#### 4.4.1.1 Resumen

Poco se conoce, y menos en razas ovinas de alta producción láctea, sobre el estado metabólico materno que ocurre durante la gestación simultánea a una lactación y el efecto de este estado sobre el rendimiento productivo lechero durante esa misma lactación y la lactación subsiguiente de la oveja y sobre el fenotipo del cordero nacido. Asimismo, otros factores, como son las características del mismo cordero nacido, pueden afectar las características y calidad de la lactación.

Por ello, el estudio tenía como objetivo evaluar el impacto del desafío metabólico materno durante la gestación concomitante con lactación en ovejas lecheras Lacaupe de alta producción, y examinar los efectos subsiguientes sobre la producción materna, metabolismo y peso de la descendencia.

Este estudio se realizó en paralelo al estudio previo, por lo que los muestreos y momentos de muestreo fueron los mismos. En este caso, se tomaron los datos de producción de cada oveja de la lactación concomitante con gestación (lactación estudiada), así como también de la lactación posterior o subsiguiente al parto de la oveja (lactación subsiguiente). Los parámetros productivos de las ovejas adultas en la lactación estudiada fueron: duración de la lactación (DL;  $199,9 \pm 56,7$  d), producción total/lactación ( $331,0 \pm 140,9$  l), producción diaria/lactación ( $1,65 \pm 0,43$  l/d), producción diaria antes de la concepción ( $2,01 \pm 0,65$  l/d), producción diaria durante el mes de concepción ( $1,19 \pm 0,43$  l/d), producción diaria desde la concepción hasta el periodo de secado ( $1,02 \pm 0,40$  l/d) y duración del periodo seco ( $80,3 \pm 48,8$  d). Asimismo, los parámetros productivos de la lactación subsiguiente en la que se incluyen a ovejas adultas y corderas fueron: duración de la lactación ( $207,8 \pm 63,0$  d), producción total/lactación ( $362,1 \pm 160,2$  l), producción diaria durante los primeros seis meses de producción después del parto ( $2,00 \pm 0,67$  l/d), producción diaria/lactación ( $1,72 \pm 0,57$  l/d) y duración del periodo seco ( $55,3 \pm 7,43$  d).

Los cambios en el peso y la CC durante la lactación estudiada concomitante con gestación se vieron afectados por el nivel de PTL ( $P < 0,05$  para el peso y  $P < 0,001$  para CC). Las ovejas adultas con mayor producción lechera (A-PTL) tuvieron mayor peso y CC al final de la gestación en comparación con las ovejas de menor producción (B-PTL) ( $P < 0,05$ ). Las ovejas con bajos rendimientos lácteos (B-PTL), mostraron una CC estable durante toda la gestación y en el postparto. En este mismo sentido, los niveles plasmáticos de glucosa, colesterol,  $\beta$ HB, NEFA y urea se vieron afectados por el nivel de PTL ( $P < 0,05$ ; para todos). Las ovejas A-PTL mostraron niveles de glucosa, colesterol y urea altos durante toda la gestación que las ovejas B-PTL. Las concentraciones plasmáticas de  $\beta$ HB aumentaron durante toda la gestación en todas las ovejas y disminuyeron en el postparto sólo en las ovejas B-PTL. La concentración de NEFA aumentó durante toda la gestación y se redujo después del parto en todas las ovejas, aunque esta reducción fue menos pronunciada en las ovejas B-PTL en comparación con las ovejas A-PTL y de producción media (M-PTL).

La PTL afectó el peso al nacer de los corderos ( $P<0,001$ ). Así, los corderos nacidos de ovejas A–PTL no fueron menos pesados que los corderos nacidos de ovejas B–PTL ( $4,29 \pm 0,74$  vs.  $4,41 \pm 0,89$  kg). La alta producción lechera de las madres durante la gestación específicamente durante el mes de la concepción PDLc influyó más drásticamente sobre el peso al nacer de sus corderos, siendo los corderos nacidos de madres A–PDLc incluso más pesados que los corderos nacidos de madres B–PDLc ( $4,40 \pm 0,84$  vs.  $4,11 \pm 0,89$  kg;  $P<0,05$ ).

En cuanto a los factores que afectaron la productividad láctea de las ovejas durante la lactación subsiguiente podemos señalar, en primer lugar, que las ovejas adultas, pero no las corderas, que experimentaron un aumento más pronunciado de la CC durante la gestación produjeron más leche durante la lactación posterior ( $P<0,0001$ ). Las ovejas de mayor producción en la lactación subsiguiente (A–PDLs) mostraron altos niveles de glucosa, colesterol,  $\beta$ HB, NEFA y una menor concentración plasmática de lactato y urea durante la gestación previa. El peso del cordero recién nacido también se relacionó de manera positiva con el nivel productivo de sus madres durante la lactación subsiguiente. Así pues, las ovejas A–PDLs eran las que habían parido los corderos con mayor peso ( $4,10 \pm 0,85$  vs.  $3,81 \pm 0,92$  kg;  $P<0,001$ ) y corpulencia (IMC–1) ( $46,22 \pm 6,68$  vs.  $44,92 \pm 7,11$  kg/m<sup>2</sup>;  $P<0,05$ ) en comparación con las ovejas de baja producción (B–PDLs).

La edad de las ovejas afectó el nivel de producción en la lactación subsiguiente, siendo las ovejas adultas -en comparación con las corderas- las de mayor producción diaria durante los primeros seis meses de la lactación subsiguiente ( $2,13 \pm 0,72$  vs.  $1,85 \pm 0,85$  l/d;  $P<0,0001$ ), las de mayor producción diaria/lactación subsiguiente ( $1,81 \pm 0,61$  vs.  $1,60 \pm 0,51$  l/d;  $P<0,0001$ ) y las de menor longitud de lactación ( $200,1 \pm 55,5$  vs.  $217,0 \pm 69,9$  d;  $P<0,01$ ).

En este mismo sentido, el tipo de gestación afectó la producción de la lactación subsiguiente, siendo las ovejas adultas con gestación múltiple las más productivas ( $2,22 \pm 0,75$  vs.  $1,82 \pm 0,57$  l/d;  $P < 0,001$ ), en comparación con las corderas con gestación múltiple. El sexo del cordero también influyó sobre la producción subsiguiente. Las ovejas con gestación simple que parieron un cordero macho tuvieron una producción diaria mayor ( $2,02 \pm 0,68$  vs.  $1,84 \pm 0,56$  l/d;  $P < 0,05$ ) en comparación de aquellas que parieron una hembra.

Estos resultados demuestran que cuando se lleva un programa de nutrición adecuado, y un sistema de producción adecuado, las ovejas lecheras, independientemente de la edad y el tipo de gestación, cubren todas sus demandas metabólicas de gestación, aún con altos niveles de producción láctea y sin verse afectada la productividad lechera.

4.4.1.2 Artículo original: [doi.org/10.3390/ani9060295](https://doi.org/10.3390/ani9060295)



## Article

# Maternal Metabolic Demands Caused by Pregnancy and Lactation: Association with Productivity and Offspring Phenotype in High-Yielding Dairy Ewes

José Luis Pesántez-Pacheco <sup>1,2</sup>, Ana Heras-Molina <sup>2</sup>, Laura Torres-Rovira <sup>2</sup>, María Victoria Sanz-Fernández <sup>2</sup>, Consolación García-Contreras <sup>2</sup>, Marta Vázquez-Gómez <sup>3</sup>, Pablo Feyjoo <sup>3</sup>, Elisa Cáceres <sup>3</sup>, Millán Frías-Mateo <sup>3</sup>, Fernando Hernández <sup>4</sup>, Paula Martínez-Ros <sup>5</sup>, Juan Vicente González-Martin <sup>3,6</sup>, Antonio González-Bulnes <sup>2,3</sup> and Susana Astiz <sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> School of Veterinary Medicine and Zootechnics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Cuenca, Avda. Doce de Octubre, Cuenca 010220, Ecuador; jose.pesantez@ucuenca.edu.ec

<sup>2</sup> Department of Animal Reproduction, Instituto Nacional de Investigación Agrarias y Alimentarias (INIA), Avda Pta. de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain; andelash@ucm.es (A.H.-M.); torrerovi@gmail.com (I.T.-R.); mvsanzfernandez@gmail.com (M.V.S.-F.); garcia.consolacion@inia.es (C.G.-C.); bulnes@inia.es (A.G.-B.)

<sup>3</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Complutense University of Madrid (UCM), Avda. Pta. de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain; mvgomez@ucm.es (M.V.-G.); feyjoo96@gmail.com (P.F.); elicacer@ucm.es (E.C.); millanfr@ucm.es (M.F.-M.); juanvi@vet.ucm.es (J.V.G.-M.)

<sup>4</sup> Technical Department, Granja Cerromonte SL, San Juan de la Encinilla, 05358 Ávila, Spain; granja@cerromonte.es

<sup>5</sup> Departamento Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPTA), Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Tirant lo Blanc, 7, 46115 Alfara del Patriarca Valencia, Spain; paula.martinez@uchceu.es

<sup>6</sup> Technical Department, TRIALVET SL, C/Encina 22, Cabanillas de la Sierra, 28721 Madrid, Spain

\* Correspondence: astiz.susana@inia.es; Tel.: +34-91-347-37-69

Received: 30 April 2019; Accepted: 28 May 2019; Published: 30 May 2019



**Simple Summary:** This study assessed the effects of metabolic load imposed by pregnancy and lactation on productivity and offspring performance in high-yielding dairy sheep. Productivity was assessed in terms of offspring and maternal milk yield, metabolic profile, and body condition. Our results show that maternal productivity and lamb body weight and growth are not compromised by pregnancy and lactation because dairy sheep, when appropriately managed, seem to be able to cover metabolic demands of pregnancy and high milk production without losing productivity.

**Abstract:** Pregnancy and lactation, especially when concurrent, create a rather metabolically demanding situation in dairy ruminants, but little is known about their effects on offspring phenotype and milk yield. Here, we evaluated the impact of pregnancy and lactation on the metabolic traits and productive performance of Lacaune dairy sheep and their offspring. Productive performance was measured in terms of milk yield, body weight (BW), body condition score (BCS), and size. Productivity was assessed during mid-pregnancy ( $75 \pm 5$  d) and late pregnancy ( $142 \pm 4$  d) and at  $52 \pm 5$  d in the postpartum period. During pregnancy, high-yielding ewes had higher BW, BCS, plasma glucose, cholesterol,  $\beta$ -OHB, and NEFA than low-yielding ewes, but lower levels of lactate and urea. High-yielding animals had lower BCS after lambing, but their lambs showed greater growth. Productivity during lactation was affected by ewe age and parity: Mature ewes (but not maiden sheep) whose BCS increased steeply during pregnancy yielded more milk in the subsequent lactation than those whose BCS did not increase. Lamb BW and size were positively associated with milk yield in the subsequent lactation. Mature ewes had higher yields than maiden sheep, and mature ewes with multiple pregnancies produced more milk than those with singleton pregnancies. Ewes with male singleton pregnancies also showed higher yield than those with female singletons.



These results demonstrate that high-yielding dairy sheep, when appropriately fed and managed, can adequately cover the metabolic demands of pregnancy and high milk production (even when concurrent) without losing productivity.

**Keywords:** milk yield; dairy sheep; pregnancy rank; age; metabolic profile; birth weight; sex lamb

## 1. Introduction

Pregnancy and lactation are associated with major metabolic changes in high-yielding dairy ruminants due to the increased requirement for nutrients such as glucose. In pregnant but non-lactating ewes, the uterus and placenta are the most energetically-demanding tissues until mid-pregnancy. Placental energy consumption decreases over the course of pregnancy, and by the end of gestation, most energy is transferred to the fetus [1]. Concurrent pregnancy and lactation are even more energetically demanding. Lactation requires dramatic metabolic changes in mammary and nonmammary tissues [1]. The main nutrient consumed is glucose [1,2], which is required for the synthesis of lactose, the most important osmotic solute in milk [3]. In high-yielding dairy cattle, the mammary requirements of glucose a few days after calving are more than 2.7 times greater than that of the gravid uterus during late pregnancy [1]. In dairy goats, mammary glucose uptake becomes even greater than oxygen consumption or blood flow immediately before parturition in order to meet the requirements of milk production [2].

The high metabolic demands of pregnancy and lactation must be supported by increased uptake of nutrients. However, dairy ruminants and especially dairy ewes cannot sufficiently increase dry matter intake during early lactation (postpartum) and late pregnancy because much of the available space is or was (postpartum) already occupied by the gravid uterus [4]. These stages also coincide with the greatest fetal energy demand (late pregnancy) and an increase in milk yield (postpartum). As a result, ewes are in a state of negative energy balance during early lactation and late pregnancy.

To cope with the challenge of negative energy balance during pregnancy and lactation, ewes increase their diurnal feeding frequency, decrease lipogenic activity, and increase lipolysis and proteolysis in order to mobilize endogenous substrates stored in body reserves [1,3,5–7]. Few studies have investigated whether these strategies are sufficient to maintain productivity and health in intensive dairy production systems. The severity of the metabolic challenge and dietary adjustment required to compensate can be evaluated by measuring ewe body weight (BW), body condition score (BCS), and blood metabolites [8,9].

The metabolic condition of the ewe is also an important determinant of offspring development and birth weight. Birth weight is determined by both genetic and environmental factors, such as maternal nutrition, metabolism, and placental function [10,11]. Maternal metabolic challenges may therefore compromise the health and future productivity of offspring. Competition between maternal and fetal needs can affect maternal health and offspring birth weight [12], especially in young ewes that need to support their own growth in addition to pregnancy requirements [12]. When pregnancy and lactation are concurrent, the fetus must compete with the demands of lactation for nutrients [13,14]. Previous studies have demonstrated a negative correlation between high milk yield and birth weight in dairy cattle [13,15] with an interaction between maternal age and number of lactations of the cow. High-yielding cows with a parity of three or more are also more likely to give birth to calves with low birth weight [15].

The metabolic challenge of pregnancy, with or without concurrent lactation, may also decrease reproductive and productive efficiency in the mother [16]. The most energetically demanding periods (late pregnancy and early lactation) can even cause fatty liver disease, pregnancy toxemia, and ketosis, thereby affecting milk production [16,17]. Ewe body weight and size, BCS, milk production, offspring sex, and even seasons all influence how well sheep adapt to the metabolic stress of pregnancy and



lactation [16,18–21]. Understanding these factors is key for optimizing and maintaining sustainable dairy production systems. However, few studies have investigated the effects of pregnancy and lactation on intensively managed dairy ewes.

The aim of the present study was to assess the metabolic demands during pregnancy and concurrent lactation in high-producing Lacaune dairy sheep and examine the subsequent effects on maternal milk yield, offspring metabolism and body size. This work is closely related to another study in this same Special Issue [22], in which we assessed the effects of maternal body weight, condition, parity, and pregnancy rank on metabolism in ewes and their offspring.

2. Materials and Methods

This work was carried out concurrently with another study published in the same Special Issue of this Journal as two parts of the same project, using the same flock [22]. The study design, animals used, methods for animal handling, measurements of metabolic parameters in ewes and lambs, assessments of postnatal development, and statistical analyses were all performed as described in that work [22]. Altogether, the study included 527 pregnant ewes (285 mature and 242 maiden), from which 34 were lost from the first mating group and 67 lost from the second group during late pregnancy or parturition because of death (8 ewes), abortion (3), non-pregnancy (7), lambings after the date predicted (3), or an absence of identification of lambs born (80). Subsequently, a total of 584 lambs (305 females and 279 males) were included in the study, of which 346 were born to mature ewes and 238 to maiden ewes. A global lamb mortality of 5.82% was observed (34/584 lambs), and 550 lambs could be measured and sampled at the age of 17 days. Ewes without previous offspring were defined as maiden sheep, while those with a parity of 1 or more were defined as mature ewes. A summary of the two cohorts of ewes in this study is shown in Figure 1.

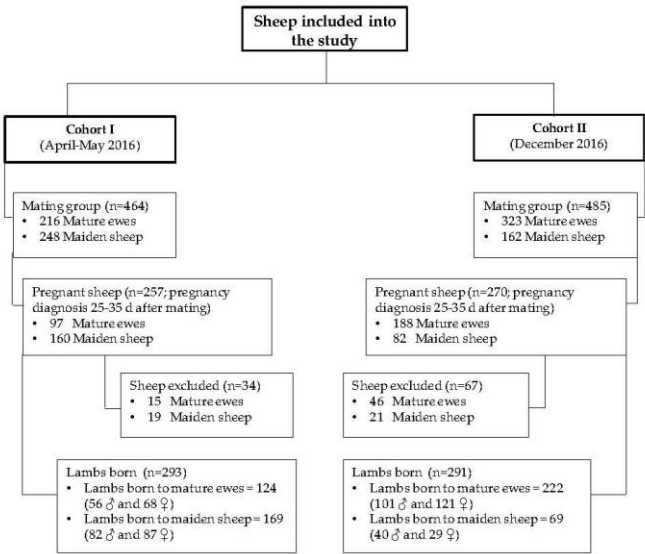


Figure 1. Flow chart of sheep included in the study.

### 2.1. Assessment of Maternal Milk Yield

Maternal milk yield during pregnancy was assessed in mature ewes. Milk yield was measured at mid-pregnancy, late-pregnancy, and postpartum (Figure 2a). Parameters measured included:

- Total milk yield over the lactation period (TMY). Based on the own data and percentile distributions, ewes with a TMY of <220 L were defined as low-yielding (L-TMY); those with 220–371 L as average-yielding (A-TMY); and those with >371 L as high-yielding (H-TMY).
- Yield per day in milk (YDIM) from conception to drying off (YDIMd). Ewes with a YDIMd of <0.77 L/d were defined as low-yielding (L-YDIMd); those with 0.77–1.12 L/d as average-yielding (A-YDIMd); and those with >1.12 L/d as high-yielding (H-YDIMd).
- YDIM during the month of conception (YDIMc). Ewes with a YDIMc of <0.91 L/d were defined as low-yielding (L-YDIMc); those with 0.91–1.35 L/d as average-yielding (A-YDIMc); and those with >1.35 L/d as high-yielding (H-YDIMc).

Maternal milk yield was also assessed during the first 6 months after lambing in both mature ewes and maiden sheep (subsequent lactation, Figure 2a,b). Ewes with a YDIM after lambing (YDIMs) of <1.57 L/d were defined as low-yielding (L-YDIMs); those with 1.57–2.19 L/d as average-yielding (A-YDIMs); and those with >2.19 L/d as high-yielding (H-YDIMs).

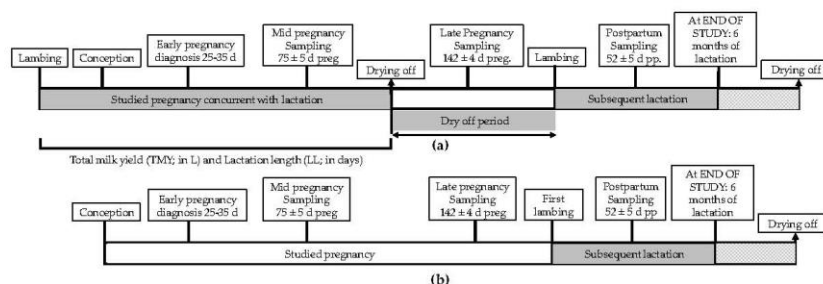


Figure 2. Timeline of assessments in mature ewes (a) and maiden sheep (b).

### 2.2. Assessment of Productivity

Data on productivity were collected from mature ewes for lactation during pregnancy (concurrent pregnancy and lactation) and from the lactation after lambing for both maiden sheep and mature ewes (subsequent lactation, Figure 2). Productivity parameters were measured at mid-pregnancy, late-pregnancy, and postpartum.

The productivity parameters assessed for concurrent pregnancy and lactation included the date of lambing; lactation length (LL); total milk yield (TMY); dry period length (DPL); and YDIM during the entire lactation (YDIMt), before conception (YDIMb), during the month of conception (YDIMc), during the second and third months of pregnancy, or from conception to drying off (YDIMd).

The productivity parameters assessed for the subsequent lactation included the date of lambing, lactation length (LLs), total milk yield (TMYs), YDIM during the first 6 months after lambing (YDIMs) and during the whole lactation period (YDIMts), and dry period length (DPLs).

### 2.3. Statistical Analyses

Data were analyzed using SPSS® 22.0 (IBM, Armonk, NY, USA) by the Statistical Department of the Center for Research Support of Complutense University of Madrid, Spain. Changes over time in BW, BCS, BMI, length, and metabolic indices of sheep and lambs were assessed for significance using ANOVA for repeated measures in a general linearized model with Greenhouse-Geisser correction.

Differences between groups at different time points were assessed for significance using non-parametric analysis, the Kruskal-Wallis test or the Mann-Whitney test, after confirming the skewed (non-normal) distribution of the data. Inter-group differences in body circumference, average daily gain and metabolic indices in lambs were also assessed for significance using the independent *t* test. Pearson correlation coefficients were calculated to assess the strength of potential relationships between sheep variables, or of relationships of lamb birth weight with maternal metabolic indices. Data were expressed as mean  $\pm$  S.E.M., and differences were considered significant if  $p < 0.05$ . Differences associated with  $p$  between 0.05 and 0.09 were defined as tendencies.

### 3. Results

#### 3.1. Productivity

Productivity in ewes during concurrent lactation and gestation and in the subsequent lactation alone are summarized in Table 1.

Classification of ewes based on the level of milk yield during concurrent gestation and lactation (mature ewes only) and during the subsequent lactation (mature ewes and maiden sheep) is shown in Table 2.

**Table 1.** Productivity parameters during concurrent gestation and lactation in mature ewes, and subsequent lactation in mature ewes and maiden sheep.

Lactation	Parameter	Mature Ewes (n = 224)	Maiden Sheep (n = 179)	All Sheep (n = 403)
Concurrent gestation and lactation	Lactation length, LL (days)	199.9 $\pm$ 56.7	N/A	N/A
	Total milk yield, TMY (L)	331.0 $\pm$ 140.9	N/A	N/A
	YDIMt (L/d)	1.65 $\pm$ 0.43	N/A	N/A
	YDIMb (L/d)	2.01 $\pm$ 0.65	N/A	N/A
	YDIMc (L/d)	1.19 $\pm$ 0.43	N/A	N/A
	YDIM in second month of pregnancy (L/d)	1.03 $\pm$ 0.42	N/A	N/A
	YDIM in third month of pregnancy (L/d)	0.93 $\pm$ 0.44	N/A	N/A
	YDIMd (L/d)	1.02 $\pm$ 0.40	N/A	N/A
Subsequent	Dry period length, DPL (days)	80.3 $\pm$ 48.8	N/A	N/A
	Lactation length, LLs (days)	200.1 $\pm$ 55.5 <sup>c</sup>	217.0 $\pm$ 69.9 <sup>d</sup>	207.8 $\pm$ 63.0
	Total milk yield, TMYs (L)	373.6 $\pm$ 171.6	348.5 $\pm$ 144.9	362.1 $\pm$ 160.2
	YDIMs (L/d)	2.13 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	1.85 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	2.00 $\pm$ 0.67
	YDIMts (L/d)	1.81 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>	1.60 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	1.72 $\pm$ 0.57
	Dry period length, DLPs (days)	57.6 $\pm$ 20.0 <sup>c</sup>	52.8 $\pm$ 14.1 <sup>d</sup>	55.3 $\pm$ 7.43

YDIMb, Yield per day in milk before conception; YDIMc, Yield per day in milk during the month of conception; YDIMd, Yield per day in milk from conception to drying off; YDIMs, Yield per day in milk during first 6 months of lactation; YDIMt, Yield per day in milk during the whole lactation; YDIMts, Yield per day in milk during the whole lactation; N/A, not applicable. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (S.D.). Superscripts indicate statistical significance between mature ewes and maiden sheep ( $a \neq b$   $p < 0.0001$ ;  $c \neq d$   $p < 0.01$ ).

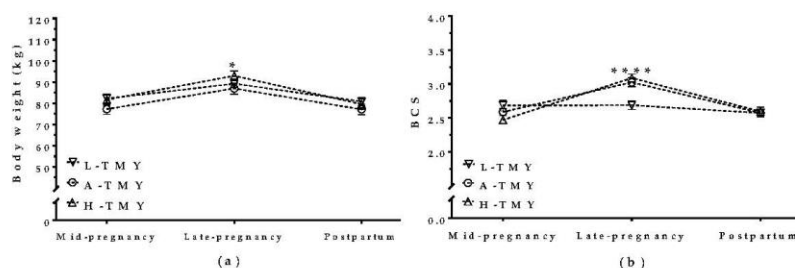
**Table 2.** Productive parameters of ewes categorized by level of milk yield during the studied lactation and subsequent lactation.

Productivity Category	Values (Mean $\pm$ S.D.) (n)			
	TMY, L *	YDIMd, L/d *	YDIMc, L/d *	YDIMs, L/d **
Low yielding	161.0 $\pm$ 41.6 (56)	0.55 $\pm$ 0.15 (54)	0.65 $\pm$ 0.18 (56)	1.17 $\pm$ 0.31 (102)
Average yielding	301.5 $\pm$ 35.0 (89)	0.93 $\pm$ 0.10 (90)	1.13 $\pm$ 0.13 (89)	1.90 $\pm$ 0.18 (156)
High yielding	485.7 $\pm$ 91.2 (79)	1.42 $\pm$ 0.29 (80)	1.66 $\pm$ 0.25 (79)	2.70 $\pm$ 0.43 (145)
Total	331.0 $\pm$ 140.86 (224)	1.02 $\pm$ 0.39 (224)	1.19 $\pm$ 0.43 (224)	1.99 $\pm$ 0.67 (403)

TMY, Total milk yield over the lactation period; YDIMd, Yield per day in milk from conception to drying off; YDIMc, Yield per day in milk during the month of conception; YDIMs, Yield per day in milk during first 6 months of lactation. \* Only mature ewes, categorized based on yield during the studied lactation. \*\* Mature and maiden sheep, categorized based on yield during the subsequent lactation.

### 3.2. Maternal Body Weight and Condition Correlated with Milk Yield in Mature Ewes

TMY correlated with BW and BCS in mature ewes during concurrent gestation and lactation and interacted significantly with the pregnancy/postpartum stage. High-yielding mature ewes (H-TMY) had higher BW in late pregnancy than average-yielding mature ewes (A-TMY;  $p = 0.03$ ), but there was no difference in BW between H-TMY ewes and L-TMY ewes (Figure 3a). H-TMY and A-TMY mature ewes also had higher BCS in late pregnancy than L-TMY ewes ( $p < 0.001$ ). The BCS of L-TMY ewes did not change throughout pregnancy or after lambing (Figure 3b).



**Figure 3.** Maternal body weight (a) and body condition score (b) in mature ewes with high, average, and low total milk yield during concurrent gestation and lactation and in the postpartum period; L-TMY: low-yielding sheep with a TMY (total Milk Yield) <220 L/lactation; A-TMY: average yielding sheep (220–371 L); H-TMY: high-yielding sheep (>371 L). Data are mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). Significant interactions between pregnancy/postpartum stage and TMY ( $p < 0.05$  for BW and  $p < 0.001$  for BCS). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*  $p < 0.05$ ).

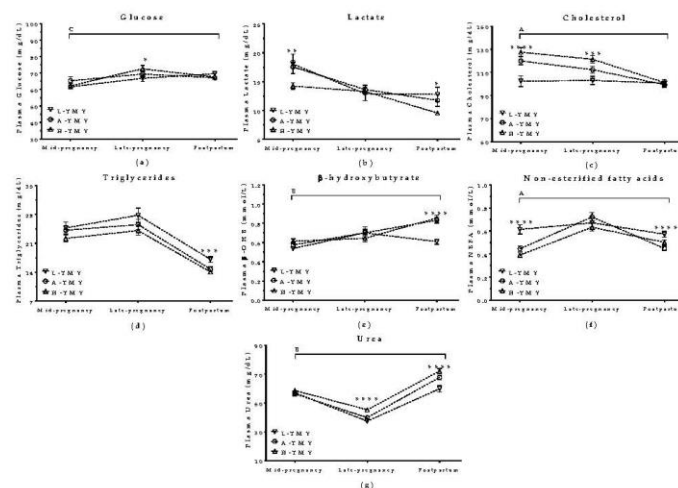
In contrast, YDIMd and YDIMc did not correlate with maternal BW ( $p = 0.7$  for YDIMd and  $p = 0.1$  for YDIMc) or BCS ( $p = 0.1$  for YDIMd and  $p = 0.2$  for YDIMc) during concurrent pregnancy and lactation or in the postpartum period.

### 3.3. Maternal Metabolite Levels Correlated with Milk Yield in Mature Ewes

Plasma metabolite levels correlated with TMY in mature ewes both during concurrent gestation and lactation and during the subsequent lactation after lambing. Glucose, cholesterol, and urea levels were all higher in H-TMY ewes than in L-TMY ewes, and there was an interaction with the pregnancy/postpartum stage (Figure 4a,c,g). Lactate and triglyceride levels decreased throughout pregnancy and the postpartum period independently of TMY (Figure 4b,d).  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -OHB) levels increased during pregnancy in all ewes but decreased after lambing only in L-TMY ewes ( $p < 0.001$ , Figure 4e). Finally, non-esterified fatty acids increased during pregnancy and decreased after lambing in all ewes, but were higher in L-TMY ewes than H-TMY and A-TMY ewes during mid-pregnancy and the postpartum period (Figure 4f).

There was no correlation between YDIMd ( $p > 0.05$ ) or YDIMc ( $p > 0.05$ ) and maternal metabolite levels during concurrent pregnancy and lactation or in the postpartum period.





**Figure 4.** Plasma glucose (a), lactate (b), cholesterol (c), triglycerides (d),  $\beta$ -hydroxybutyrate (e), non-esterified fatty acids (f), and urea (g) in mature ewes with high, average, or low total milk yield during concurrent gestation and lactation and in the postpartum period. L-TMY: low-yielding sheep with a TMY (total Milk Yield) <220 L/lactation; A-TMY: average yielding sheep (220–371 L); H-TMY: high-yielding sheep (>371 L). Data are mean  $\pm$  SEM. Significant interactions between pregnancy/postpartum stage and TMY are represented by an upper horizontal line and capital letters (A:  $p < 0.0001$ , B:  $p < 0.001$ , and C:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

#### 3.4. Lamb BW, Body Size, and Plasma Metabolites Correlated with Maternal Milk Yield in Mature Ewes

Birth weight, trunk length, body mass index (BMI), and plasma metabolites in lambs born to mature ewes are shown in Table 3. There was no difference in birth weight among lambs born to high-, average- or low-yielding ewes. However, lambs born to high-yielding (H-TMY) ewes showed higher average daily weight gain than those born to average- or low-yielding ewes ( $p < 0.05$ ). At 17 days of age, lambs born to high-yielding ewes were heavier ( $p < 0.0001$ ) and had greater trunk length, BMI, and thoracic and abdominal girth than lambs born to low-yielding ewes. Birth weight ( $p = 0.006$ ), but not trunk length, correlated with YDIMd, while both birth weight and trunk length positively correlated with YDIMc. There was no correlation between YDIMc and lamb phenotypes at 17 days of age (Table 3).

Plasma  $\beta$ -OHB and urea levels were higher in lambs born to H-TMY ewes than in those born to A-TMY and L-TMY ewes ( $p < 0.005$  for both), while lactate levels were lower in lambs born to high-yielding than low-yielding ewes ( $p < 0.0001$ ). Plasma  $\beta$ -OHB levels were also higher ( $p < 0.05$ ), and lactate levels lower ( $p < 0.01$ ), in lambs born to H-YDIMd ewes than in those born to L-YDIMd ewes, but there was no correlation with YDIMc. Lambs born to L-YDIMc ewes also had lower levels of glucose than those born to A-YDIMc or H-YDIMc ewes at 17 days of age (Table 3).

Details of Pearson correlation analysis between milk yield during gestation and lamb birth weight are shown in Table S1. A weak, positive correlation was found between high-yielding ewes and lamb birth weight ( $r < 0.34$ ,  $p < 0.05$ ), with a stronger effect in fatter mothers and in ewes with high YDIMc instead of high YDIMd. Lamb birth weight also positively correlated with YDIMc in mature ewes with multiple pregnancies.

Table 3. Phenotypic parameters and plasma metabolite levels in lambs born to mature ewes showing high, average, or low milk yield during concurrent gestation and lactation.

Parameters	Total Milk Yield			Yield Per Day in Milk from Conception to Drying off			Yield Per Day in Milk during the Month of Conception		
	L-TMY	A-TMY	H-TMY	L-YDIMd	A-YDIMd	H-YDIMd	L-YDIMc	A-YDIMc	H-YDIMc
Phenotypic Parameters	(n = 78)	(n = 118)	(n = 121)	(n = 82)	(n = 119)	(n = 116)	(n = 81)	(n = 122)	(n = 114)
Birth weight, kg	4.41 ± 0.89 <sup>l</sup>	4.09 ± 0.87 <sup>k</sup>	4.29 ± 0.74 <sup>l,k</sup>	4.08 ± 0.86	4.31 ± 0.79	4.31 ± 0.84	4.11 ± 0.89 <sup>l</sup>	4.20 ± 0.78 <sup>l,k</sup>	4.40 ± 0.84 <sup>k</sup>
Body weight, 17 days <sup>a</sup> , kg	7.40 ± 1.68 <sup>k</sup>	8.88 ± 2.04 <sup>e</sup>	9.63 ± 1.80 <sup>cd</sup>	8.68 ± 2.22 <sup>de</sup>	8.46 ± 2.09 <sup>l</sup>	9.25 ± 1.82 <sup>k</sup>	8.65 ± 2.27	8.87 ± 1.95	8.83 ± 2.01
Average daily weight gain, kg	0.228 ± 0.1 <sup>k</sup>	0.246 ± 0.07 <sup>l,k</sup>	0.253 ± 0.06 <sup>l</sup>	0.243 ± 0.07	0.240 ± 0.09	0.250 ± 0.07	0.238 ± 0.08	0.233 ± 0.08	0.239 ± 0.07
Birth trunk length, cm	30.10 ± 2.26	29.68 ± 2.02	30.05 ± 1.90	29.19 ± 2.35	30.30 ± 1.81	30.06 ± 1.91	29.35 ± 2.32 <sup>l</sup>	30.04 ± 1.93 <sup>l,k</sup>	30.21 ± 1.87 <sup>k</sup>
Trunk length 17 days <sup>a</sup> , cm	36.93 ± 3.42 <sup>k</sup>	39.36 ± 3.43 <sup>b</sup>	40.44 ± 3.24 <sup>c</sup>	38.63 ± 3.92 <sup>l</sup>	38.97 ± 3.55 <sup>l,g</sup>	39.76 ± 3.40 <sup>g</sup>	38.54 ± 3.86	39.73 ± 3.31	39.03 ± 3.69
Birth BMI, kg/m <sup>2</sup>	48.45 ± 7.71	46.05 ± 6.76	47.39 ± 6.40	47.60 ± 8.05	46.65 ± 6.20	47.34 ± 6.76	47.23 ± 6.85	46.37 ± 6.96	47.92 ± 6.88
BMI, 17 days <sup>a</sup> , kg/m <sup>2</sup>	54.28 ± 10.32 <sup>l</sup>	56.91 ± 9.32 <sup>de</sup>	58.72 ± 9.04 <sup>e</sup>	57.81 ± 10.86 <sup>l,k</sup>	55.10 ± 8.87 <sup>l</sup>	58.25 ± 9.28 <sup>k</sup>	57.74 ± 10.75	55.88 ± 9.27	57.55 ± 9.19
Thoracic girth, 17 days <sup>a</sup> , cm	43.31 ± 3.56 <sup>k</sup>	45.76 ± 3.80 <sup>b</sup>	47.42 ± 3.51 <sup>c</sup>	45.62 ± 4.18 <sup>l,g</sup>	45.04 ± 3.95 <sup>l</sup>	46.69 ± 3.65 <sup>g</sup>	45.59 ± 4.30	45.69 ± 3.76	46.08 ± 3.92
Abdominal girth, 17 days <sup>a</sup> , cm	42.92 ± 4.03 <sup>k</sup>	46.18 ± 4.43 <sup>b</sup>	47.43 ± 4.51 <sup>b</sup>	45.72 ± 4.66 <sup>l,k</sup>	45.19 ± 4.62 <sup>l</sup>	46.64 ± 4.72 <sup>k</sup>	45.39 ± 4.78	46.04 ± 4.33	46.02 ± 5.02
Metabolite Levels at 17 Days of age									
Glucose, mg/dL	120.9 ± 20.0	120.1 ± 25.9	123.4 ± 26.6	117.3 ± 20.5	123.9 ± 27.0	122.2 ± 25.1	117.6 ± 25.1 <sup>l</sup>	124.2 ± 25.8 <sup>k</sup>	121.6 ± 23.3 <sup>k</sup>
Lactate, mg/dL	19.7 ± 4.61 <sup>k</sup>	19.7 ± 5.88 <sup>k</sup>	17.4 ± 4.88 <sup>b</sup>	19.4 ± 5.45 <sup>k</sup>	19.5 ± 5.44 <sup>b</sup>	17.7 ± 4.92 <sup>l</sup>	19.7 ± 5.41	18.5 ± 5.41	18.5 ± 5.11
Cholesterol, mg/dL	91.4 ± 19.15	94.5 ± 16.43	95.6 ± 18.79	93.3 ± 17.18	94.0 ± 18.24	94.9 ± 18.54	94.6 ± 16.97	96.1 ± 19.21	91.7 ± 17.37
Triglycerides, mg/dL	51.3 ± 29.14	57.5 ± 32.30	54.2 ± 36.46	55.6 ± 42.69	52.9 ± 27.41	56.0 ± 31.02	57.5 ± 41.97	52.5 ± 26.88	55.1 ± 32.24
β-OHB, mmol/L	0.116 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.129 ± 0.06 <sup>d,e</sup>	0.145 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.121 ± 0.07 <sup>k</sup>	0.136 ± 0.07 <sup>l</sup>	0.136 ± 0.05 <sup>l</sup>	0.125 ± 0.07	0.143 ± 0.07	0.126 ± 0.06
NEFA, mmol/L	0.537 ± 0.15	0.546 ± 0.20	0.541 ± 0.16	0.517 ± 0.16	0.530 ± 0.15	0.571 ± 0.19	0.523 ± 0.17	0.547 ± 0.16	0.530 ± 0.19
Urea, mg/dL	31.1 ± 7.92 <sup>l</sup>	35.9 ± 11.78 <sup>l</sup>	35.7 ± 8.78 <sup>e</sup>	33.7 ± 11.38	33.1 ± 10.25	34.9 ± 8.36	33.2 ± 12.06	34.1 ± 9.57	34.5 ± 8.69

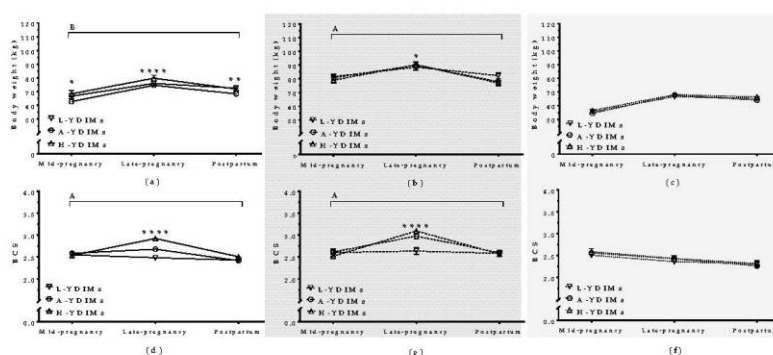
<sup>a</sup> Lamb age at the second measurement was 17 ± 5 days. BMI, Body mass index; β-OHB, β-hydroxybutyrate; NEFA, non-esterified fatty acids; TMY, Total milk yield; YDIMd, Yield per day in milk from conception to drying off; YDIMc, Yield per day in milk during the month of conception. Data are mean ± S.D. a, b and c *p* < 0.0001; d *e*, *p* < 0.001; f *g*, *p* < 0.005; h *i*, *p* < 0.01; j *k*, *p* < 0.05.

Lamb birth weight showed a weak positive correlation with the following maternal levels during mid-pregnancy: glucose ( $r = 0.17$ ,  $p < 0.05$ ), lactate ( $r = 0.24$ ,  $p < 0.05$ ), cholesterol ( $r = 0.18$ ,  $p < 0.05$ ), triglyceride ( $r = 0.24$ ,  $p < 0.05$ ), and NEFA ( $r = 0.23$ ,  $p < 0.01$ ). In contrast, maternal  $\beta$ -OHB and NEFA levels in late-pregnancy showed a weak negative correlation with lamb birth weight (all  $r$  values  $< -0.25$ ,  $p < 0.05$ ; Table S2).

### 3.5. Maternal Features during Gestation on Milk Yield during the Subsequent Lactation

#### 3.5.1. Maternal Weight and BCS during Concurrent Gestation and Lactation Affected Milk Yield in the Subsequent Lactation

To investigate how metabolic challenge during a previous pregnancy (with or without concurrent lactation) affected productivity in the subsequent lactation after lambing, we compared milk yield after lambing (YDIMs) in mature ewes and maiden sheep (Figure 5). Mature ewes with high YDIMs also showed higher increases in maternal BW ( $p = 0.01$ ) and BCS ( $p < 0.0001$ ) during pregnancy, particularly in late pregnancy (Figure 5b, e). This effect was not observed in maiden sheep, where YDIMs was independent of BW and BCS during pregnancy (Figure 5c, f).

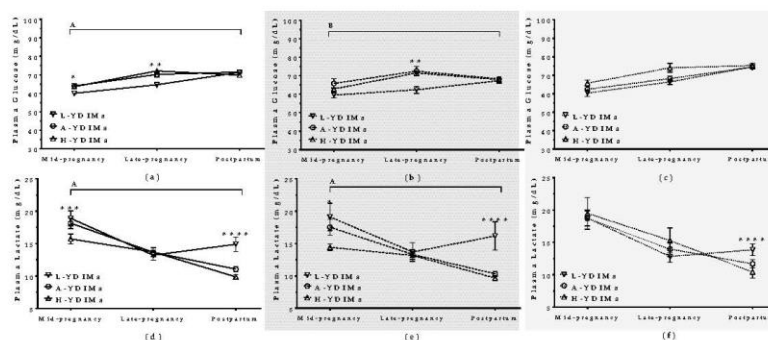


**Figure 5.** Maternal body weight in (a) all ewes, (b) mature ewes, and (c) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. BCS in (d) all ewes, (e) mature ewes, and (f) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. L-YDIMs: low-yielding sheep with a YDIMs (daily milk yield during the first 6 months after lambing) of 1.17 L/d in average; A-YDIMs: average yielding sheep with a YDIMs of 1.90 L/d in average; H-YDIMs: high yielding sheep with a YDIMs of 2.70 L/d in average. Data are mean  $\pm$  SEM. Significant interactions between pregnancy/postpartum stage and YDIMs are represented by an upper horizontal line (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.01$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

#### 3.5.2. Maternal Metabolite Levels during Pregnancy Correlated with Productivity in the Subsequent Lactation

##### Glucose

Mature H-YDIMs and A-YDIMs ewes had higher glucose levels in late pregnancy than L-YDIMs ewes ( $p < 0.0001$ , Figure 6b). However, there was no difference in glucose levels between H-YDIMs and L-YDIMs maiden sheep (Figure 6c).



**Figure 6.** Plasma glucose levels in (a) all ewes, (b) mature ewes, and (c) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. Lactate levels in (d) all ewes, (e) mature ewes, and (f) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. L-YDIM: low-yielding sheep with a TMY (total Milk Yield) <220 L/lactation; A-TMY: average yielding sheep (220–371 L); H-TMY: high-yielding sheep (>371 L). Data are mean  $\pm$  SEM. Significant interactions between pregnancy/postpartum stage and YDIMs are represented by an upper horizontal line (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point ( $**** p < 0.0001$ ;  $*** p < 0.001$ ;  $** p < 0.01$ ;  $* p < 0.05$ ).

#### Lactate

L-YDIMs ewes and maiden sheep showed higher plasma lactate levels in the postpartum period than H-YDIMs and A-YDIMs ewes and maiden sheep. The difference was larger for mature ewes (Figure 6e,f).

#### Cholesterol

The relationship between milk yield and cholesterol was different for mature ewes than for maiden sheep (Figure 7). Mature H-YDIMs and A-YDIMs ewes had higher cholesterol levels than L-YDIMs ewes in mid-pregnancy, and these levels then decreased after lambing (Figure 7b). Mature L-YDIMs ewes had low cholesterol levels throughout gestation and the postpartum period. In contrast, H-YDIMs and A-YDIMs maiden sheep had higher cholesterol levels than L-YDIMs sheep in the postpartum period (Figure 7c). L-YDIMs maiden sheep showed an increase in cholesterol during gestation and after lambing.

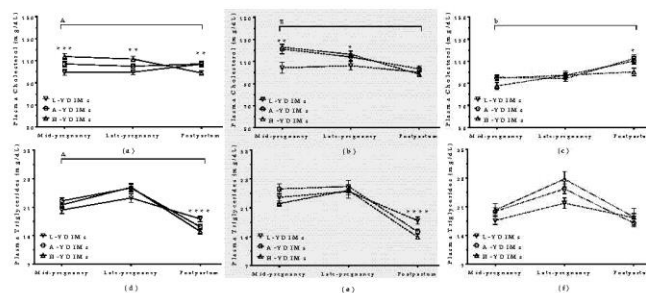
#### Triglycerides

Triglyceride levels remained stable during gestation and decreased after lambing in all sheep, but were lower in mature H-YDIMs and A-YDIMs ewes than L-YDIMs ewes in the postpartum period (Figure 7e). There was no difference in triglyceride levels among H-YDIMs, A-YDIMs, and L-YDIMs maiden sheep (Figure 7f).

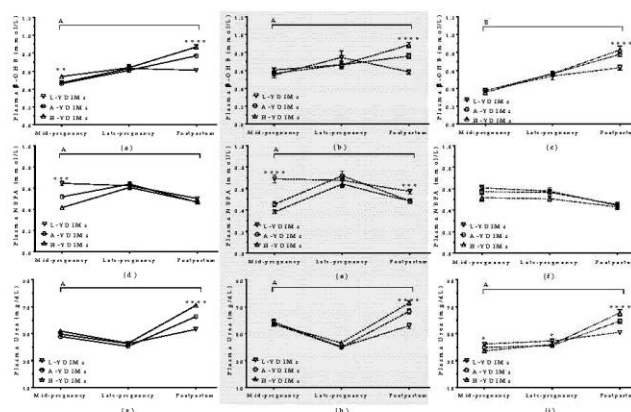
#### $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -OHB)

There was no difference in plasma  $\beta$ -OHB levels in mature ewes until the postpartum period, when mature L-YDIMs ewes showed an abrupt drop in  $\beta$ -OHB levels, whereas  $\beta$ -OHB levels continued to rise in H-YDIMs and A-YDIMs ewes (Figure 8b).  $\beta$ -OHB increased in maiden sheep throughout pregnancy and the postpartum period, but L-YDIMs maiden sheep showed lower  $\beta$ -OHB levels than H-YDIMs and A-YDIMs sheep in the postpartum period (Figure 8c).





**Figure 7.** Plasma cholesterol in (a) all ewes, (b) mature ewes, and (c) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. Triglycerides in (d) all ewes, (e) mature ewes, and (f) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. L-YDIMs: low-yielding sheep with a YDIMs (daily milk yield during the first 6 months after lambing) of 1.17 L/d in average; A-YDIMs: average yielding sheep with a YDIMs of 1.90 L/d in average; H-YDIMs: high yielding sheep with a YDIMs of 2.70 L/d in average. Data are mean  $\pm$  SEM. Significant interactions between pregnancy/postpartum stage and YDIMs are represented by an upper horizontal line (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; and b:  $p < 0.06$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).



**Figure 8.** Plasma  $\beta$ -hydroxybutyrate levels in (a) all ewes, (b) mature ewes, and (c) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. Non-esterified fatty acids (NEFA) in (d) all ewes, (e) mature ewes, and (f) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. Urea in (g) all ewes, (h) mature ewes, and (i) maiden sheep showing high, average, or low milk yield at different stages of pregnancy and the postpartum period. L-YDIMs: low-yielding sheep with a YDIMs (daily milk yield during the first 6 months after lambing) of 1.17 L/d in average; A-YDIMs: average yielding sheep with a YDIMs of 1.90 L/d in average; H-YDIMs: high yielding sheep with a YDIMs of 2.70 L/d in average. Data are mean  $\pm$  SEM. Significant interactions between stage of pregnancy/postpartum and YDIMs are represented by an upper horizontal line (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

### Non-Esterified Fatty Acids (NEFA)

There was no difference in plasma NEFA levels among H-YDIMs, A-YDIMs, and L-YDIMs maiden sheep. However, NEFA levels were higher in mature L-YDIMs ewes than H-YDIMs and A-YDIMs ewes in mid-pregnancy and in the postpartum period (Figure 8e).

### Urea

Plasma urea levels decreased from mid to late pregnancy in mature ewes and increased after lambing. However, H-YDIMs and A-YDIMs ewes had higher postpartum urea levels than L-YDIMs ewes. Urea levels also increased after lambing in maiden sheep, but were higher in H-YDIMs and A-YDIMs maiden sheep than in L-YDIMs maiden sheep.

### 3.5.3. Ewe Age, Pregnancy Rank, and Concurrent Lactation with Pregnancy Affected Milk Yield in the Subsequent Lactation

Milk yield (YDIMs and YDIMts) was higher, and LLs shorter, in mature ewes than in maiden sheep (Table 4). DLPs was also longer in mature ewes than in maiden sheep (Table 4;  $p < 0.05$  for all). Mature ewes with multiple pregnancies also produced more milk (higher YDIMs and YDIMts) after lambing than mature ewes with singleton pregnancies ( $p = 0.04$ ). This effect was not observed in maiden sheep.

**Table 4.** Productivity parameters during the subsequent lactation in mature ewes and maiden sheep with single or multiple pregnancies.

Parameters	Age		Pregnancy Rank					
	Mature Ewes ( <i>n</i> = 218)	Maiden Sheep ( <i>n</i> = 179)	Single ( <i>n</i> = 186)		Multiple ( <i>n</i> = 211)			
LLs, days	200.1 ± 55.5 <sup>e</sup>	217.0 ± 69.9 <sup>f</sup>	208.6 ± 62.5		207.1 ± 64.7			
TMYs, L	373.6 ± 171.6	348.5 ± 144.9	355.5 ± 154.7		369.0 ± 167.4			
YDIMs, L/d	2.13 ± 0.72 <sup>a</sup>	1.85 ± 0.58 <sup>b</sup>	1.93 ± 0.63 <sup>c</sup>		2.07 ± 0.71 <sup>h</sup>			
YDIMts, L/d	1.81 ± 0.61 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.51 <sup>b</sup>	1.68 ± 0.55		1.76 ± 0.60			
DLPs, days	57.6 ± 20.0 <sup>g</sup>	52.8 ± 14.1 <sup>h</sup>	54.1 ± 12.4		56.3 ± 21.2			
	Single Pregnancy ( <i>n</i> = 86)	Multiple Pregnancy ( <i>n</i> = 132)	Single Pregnancy ( <i>n</i> = 100)	Multiple Pregnancy ( <i>n</i> = 79)	Mature Ewes ( <i>n</i> = 86)	Maiden Sheep ( <i>n</i> = 100)	Mature Ewes ( <i>n</i> = 132)	Maiden Sheep ( <i>n</i> = 79)
LLs, days	196.1 ± 49.2	202.3 ± 59.6	219.4 ± 70.5	215.1 ± 72.0	196.1 ± 49.2 <sup>g</sup>	219.4 ± 70.5 <sup>h</sup>	202.3 ± 59.6	215.1 ± 72.0
TMYs, L	355.0 ± 158.6	386.9 ± 180.7	355.9 ± 152.1	339.1 ± 138.5	355.0 ± 158.6	355.9 ± 152.1	386.9 ± 180.7 <sup>g</sup>	339.1 ± 138.5 <sup>h</sup>
YDIMs, L/d	2.00 ± 0.66 <sup>g</sup>	2.22 ± 0.75 <sup>h</sup>	1.87 ± 0.59	1.82 ± 0.57	2.00 ± 0.66	1.87 ± 0.59	2.22 ± 0.75 <sup>c</sup>	1.82 ± 0.57 <sup>d</sup>
YDIMts, L/d	1.75 ± 0.56	1.86 ± 0.64	1.61 ± 0.53	1.59 ± 0.49	1.75 ± 0.56	1.61 ± 0.53	1.86 ± 0.64 <sup>c</sup>	1.59 ± 0.49 <sup>d</sup>
DLPs, days	56.4 ± 13.5	58.6 ± 23.5	52.3 ± 11.3	53.0 ± 17.0	56.4 ± 13.5 <sup>g</sup>	52.3 ± 11.3 <sup>h</sup>	58.6 ± 23.5 <sup>g</sup>	53.0 ± 17.0 <sup>h</sup>

DLPs, Dry period length; LLs, lactation length; TMYs, Total milk yield; YDIMs, Yield per day in milk during the first 6 months of lactation; YDIMts, Yield per day in milk during the whole lactation. Data are mean  $\pm$  S.D. a  $\neq$  b,  $p < 0.0001$ ; c  $\neq$  d,  $p < 0.001$ ; e  $\neq$  f,  $p < 0.01$ ; g  $\neq$  h,  $p < 0.05$ .

Pearson's correlation analysis also showed a strong positive correlation in mature ewes between milk yield in the lactation concurrent with pregnancy as well as in the subsequent lactation ( $r = 0.627$ ,  $p < 0.0001$ ; Table S3).

### 3.6. Lamb Phenotypes Correlated with Maternal Yield during the Subsequent Lactation

Lamb corpulence was positively associated with daily milk yield in the subsequent lactation after lambing, with H-YDIMs ewes producing larger lambs at birth than L-YDIMs ewes (Table 5).

**Table 5.** Phenotypes of lambs born to high-, average-, or low-yielding ewes.

Phenotypic Parameters	L-YDIMs (n = 124)	A-YDIMs (n = 201)	H-YDIMs (n = 200)
Birth weight, kg	3.81 ± 0.92 <sup>d</sup>	3.92 ± 0.96 <sup>de</sup>	4.10 ± 0.85 <sup>e</sup>
Body weight, 17 days <sup>a</sup> , kg	7.40 ± 2.0 <sup>a</sup>	7.79 ± 2.0 <sup>a</sup>	8.62 ± 2.2 <sup>b</sup>
Average daily weight gain, kg	0.228 ± 0.007	0.229 ± 0.005	0.238 ± 0.005
Birth trunk length, cm	28.93 ± 2.50 <sup>f</sup>	29.01 ± 2.61 <sup>fg</sup>	29.67 ± 2.04 <sup>g</sup>
Trunk length 17 days <sup>a</sup> , cm	35.80 ± 3.96 <sup>a</sup>	37.32 ± 3.85 <sup>b</sup>	38.79 ± 3.66 <sup>c</sup>
Birth BMI, kg/m <sup>2</sup>	44.92 ± 7.11 <sup>h</sup>	45.91 ± 6.67 <sup>hi</sup>	46.22 ± 6.68 <sup>i</sup>
BMI, 17 days <sup>a</sup> , kg/m <sup>2</sup>	57.31 ± 10.45	55.45 ± 10.08	56.73 ± 10.15
Thoracic girth, 17 days <sup>a</sup> , cm	43.35 ± 3.92 <sup>a</sup>	43.93 ± 4.24 <sup>a</sup>	45.38 ± 4.15 <sup>b</sup>
Abdominal girth, 17 days <sup>a</sup> , cm	42.89 ± 4.47 <sup>a</sup>	43.85 ± 8.45 <sup>a</sup>	45.60 ± 4.92 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Lamb age at the second measurement was 17 ± 5 days. BMI: Body mass index. YDIMs, Yield per day in milk during the first 6 months of lactation. Data are mean ± S.D. a, b and c *p* < 0.0001; d ≠ e, *p* < 0.005; f ≠ g, *p* < 0.01; h ≠ i, *p* < 0.05.

Offspring sex was also associated with milk yield after lambing. Ewes which have lambed male lambs produced more milk after lambing than ewes which had lambed female lambs (Table 6; *p* = 0.04). This effect was not observed in ewes with multiple pregnancies. However, mature ewes with multiple pregnancies in which both lambs were female showed higher milk yield in the subsequent lactation than mature ewes with male and female lambs (Table 7; *p* = 0.02).

**Table 6.** Productivity parameters in mature ewes and maiden sheep with male and/or female offspring during the lactation after having lambed those lambs.

Parameters	Male (n = 95)	Female (n = 91)	Male + Female (n = 111)	Female + Female (n = 58)	Male + Male (n = 39)
LLs, days	206.7 ± 57.9	210.6 ± 67.3	211.7 ± 68.7	201.8 ± 66.2	201.7 ± 48.9
TMYs, L	367.6 ± 165.0	342.7 ± 143.0	362.6 ± 167.9	394.5 ± 190.1	349.2 ± 123.8
YDIMs, L/d	2.02 ± 0.68 <sup>a</sup>	1.84 ± 0.56 <sup>b</sup>	2.02 ± 0.69	2.22 ± 0.80	1.99 ± 0.60
YDIMts, L/d	1.73 ± 0.58	1.62 ± 0.51	1.68 ± 0.60	1.91 ± 0.60	1.75 ± 0.57
DLPs, days	54.5 ± 13.2	53.7 ± 11.7	58.9 ± 26.7	53.5 ± 9.8	54.4 ± 18.5

DLPs, Dry period length; LLs, lactation length; TMYs, Total milk yield; YDIMs, Yield per day in milk during the first 6 months of lactation; YDIMts, Yield per day in milk during the whole lactation. Data are expressed as mean ± S.D. a ≠ b, *p* < 0.05.

Table 7. Productive parameters in mature ewes and maiden sheep with male and/or female offspring during subsequent lactation.

Parameters	Mature Ewes		Maiden Sheep		Mature Ewes			Maiden Sheep		
	Male (40)	Female (46)	Male (55)	Female (45)	Male + Female (73)	Female + Female (36)	Male + Male (21)	Male + Female (58)	Female + Female (22)	Male + Male (18)
LLs, days	207.0 ± 54.5	186.6 ± 42.5	206.5 ± 60.7 <sup>a</sup>	235.2 ± 78.7 <sup>b</sup>	200.5 ± 63.3	207.7 ± 63.0	199.1 ± 38.4	233.2 ± 74.4	192.2 ± 71.7	204.7 ± 59.9
TMys, L	386.5 ± 174.3	327.6 ± 139.8	353.9 ± 138.1	388.3 ± 146.2	367.0 ± 180.7	443.8 ± 192.0	398.8 ± 143.0	354.2 ± 141.9	313.8 ± 160.4	338.1 ± 99.7
YDIMs, L/d	2.10 ± 0.73	1.91 ± 0.59	1.96 ± 0.64	1.76 ± 0.52	2.13 ± 0.72	2.46 ± 0.77	2.11 ± 0.75	1.80 ± 0.58	1.82 ± 0.72	1.85 ± 0.31
YDIMs, L/d	1.82 ± 0.58	1.69 ± 0.55	1.67 ± 0.57	1.54 ± 0.46	1.75 ± 0.63 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.56 <sup>b</sup>	1.82 ± 0.69 <sup>a,b</sup>	1.54 ± 0.52	1.60 ± 0.53	1.67 ± 0.38
DLPs, days	58.6 ± 15.9	54.3 ± 10.2	51.5 ± 9.8	53.3 ± 12.8	62.3 ± 31.3	54.7 ± 9.65	53.2 ± 11.4	53.7 ± 16.7	51.5 ± 10.0	53.6 ± 23.8

DLPs, Dry period length; LLs, lactation length; TMys, Total milk yield; YDIMs, Yield per day in milk during the first 6 months of lactation; YDIMs, Yield per day in milk during the whole lactation. Data are expressed as mean ± S.D. <sup>a</sup> ≠ <sup>b</sup>,  $p < 0.05$ .

#### 4. Discussion

Our results show that sheep with higher dairy yields during concurrent gestation and lactation have higher BW and better BCS than those with low yield. Both BW and BCS increased throughout pregnancy in high-yielding ewes, whereas low-yielding sheep did not show this increase. These findings suggest that ewes with more body reserve and a positive energy balance are better able to cope with the metabolic challenge imposed by pregnancy and concurrent lactation.

High-yielding ewes also had higher glucose and cholesterol levels during pregnancy. Glucose is the main nutrient consumed during pregnancy and lactation, as it is the main energy source for developing fetuses [23–25] and the main component in lactose synthesis [23]. Cholesterol is a key nutrient in tissue development and a precursor for many hormones and metabolic regulators required for fetal development [24,25]. High plasma cholesterol is a marker of good metabolic condition in lactating female dairy cows [26]. In agreement with our findings, previous studies in Merinolandschaf ewes have reported that high-yielding ewes have higher plasma glucose and cholesterol levels [27].

High-yielding ewes also showed a steep decrease in BW and BCS after lambing, which was not observed in low-yielding ewes. This decrease may be a consequence of the intense metabolic challenge imposed by high milk production, which causes a negative energy balance [28,29] or may be that they are better mobilizing fat reserves and nutrients. It is noteworthy that all metabolite levels and all measures of BCS were within the normal physiological ranges, regardless of productivity.

In contrast, low-yielding ewes maintained stable BW and BCS during pregnancy and in the postpartum period, suggesting a weaker metabolic challenge reflecting, probably, their low milk production and the disability to mobilize body reserves. Our study design does not allow us to determine whether low-yielding ewes produce less milk because of a limitation in their metabolic status, or if a low milk yield causes metabolic changes.

NEFA levels are a marker of lipid catabolism, and they increase when glucose metabolism is deficient. After lambing, a simultaneous decrease in NEFA levels and increase in  $\beta$ -OHB levels signals the end of a negative energy balance and lipomobilization stops [30,31]. In our study, high-yielding ewes had the highest levels of  $\beta$ -OHB and the smallest levels of NEFAs in the postpartum period, suggesting that these changes occurred earlier than in low-yielding ewes despite more milk production. High-yielding ewes are therefore more able to produce milk while maintaining maternal health. These changes are similar to those previously described in heifers and sheep [1,4,32] and reflect the high metabolic challenge imposed by concomitant pregnancy and lactation.

Pathological levels of  $\beta$ -OHB are observed in situations associated with metabolic challenge. Dairy goats with ketonemia show reduced milk production before and after giving birth [33]. Similarly, Chios dairy ewes with high levels of  $\beta$ -OHB and NEFA before and after parturition show lower milk yield during lactation [16]. We did not observe this association in the present study, however, possibly because  $\beta$ -OHB and NEFA levels were always within the physiological ranges, reflecting the absence of a severe metabolic stress, despite high milk production.

Maternal milk yield did not affect BW, body size, or BMI of neonatal lambs. We have previously demonstrated that maternal metabolite levels have a negligible effect on lamb phenotype [22]. These results may suggest that high-yielding sheep are more able to cope with the metabolic challenges of lactation and pregnancy. The lightest lambs were produced by ewes with average milk yield. It may be that average-yielding ewes attempt to produce more milk but are not able to cope with the metabolic stress and give birth to lighter lambs as a result. In contrast, low-yielding ewes have a different metabolite profile, suggesting that they direct all their resources into fetal development rather than milk production. Low birth weight is associated with lower metabolite availability in late pregnancy [1,34]. This is consistent with our observation in the present study that sheep that maintained higher levels of glucose, cholesterol, and triglycerides during mid-pregnancy gave birth to heavier lambs.

High birth weight in lambs correlated with lower maternal levels of  $\beta$ -OHB and NEFAs in late pregnancy, especially in average- and high-yielding ewes. These parameters are indicative of body reserve mobilization. Therefore, while previous studies in Border Leicester X Scottish Blackface and



Assaf sheep showed that metabolic challenge in mothers negatively affected lamb birth weight [12,35], the high-yielding ewes in our study were able to cope adequately with the metabolic challenge. In support of this, lambs born to high-yielding ewes were larger than those of low- or average-yielding ewes at 17 days of age, despite being born with a slightly, numerically (not significantly different) lower birth weight [20,36].

Plasma metabolite levels in lambs correlate weakly with those in the mother in Lacaune ewes [22], which we also observed in our study. For example,  $\beta$ -OHB and urea levels were higher and lactate levels were lower in lambs born to high-yielding ewes than in those born to low-yielding ewes. Similarly, high-yielding ewes had the highest levels of  $\beta$ -OHB and urea and the lowest levels of lactate. These results are similar to those reported in previous studies in meat sheep breeds [12,37].

Productivity parameters in mature ewes during concurrent gestation and lactation were similar to those during the lactation after lambing. Previous studies in Lacaune ewes have shown that milk yield in the current lactation correlates with milk yield in the next lactation, suggesting that individual sheep tend to maintain the same level of yield throughout life [18,38], similar to dairy cattle [39]. These results indicate that productivity is likely to be a heritable genetic trait in dairy ruminants [39] and that previous yield parameters can be used to accurately design culling schemes in a herd.

The evaluation of maternal metabolites during pregnancy showed that high-yielding sheep had higher plasma concentrations of glucose, lactate,  $\beta$ -OHB and urea, but lower triglycerides and NEFAs, than low-yielding ewes in late pregnancy and postpartum. These differences suggest that low-yielding sheep have reduced metabolic waste, while high-yielding sheep experience greater metabolic challenge in late pregnancy. It is well-known that the metabolic challenge of pregnancy can decrease reproductive and productive efficiency in the subsequent lactation (especially in concurrent gestation and lactation or in maiden sheep with their own growth demands) [17] and may even lead to metabolic diseases such as fatty liver, pregnancy toxemia and ketosis, which also affect milk production [16,17]. However, milk yield in the subsequent lactation was not reduced in our high-yielding ewes in this study. In fact, we found that ewes with the highest yield during concurrent gestation and lactation had the highest BCS and BW during pregnancy and also had high yields in the subsequent lactation. These results show that high-yielding ewes do not have to experience metabolic disruption.

BCS in the peripartum period and DPL also affect milk yield and are associated with metabolic disorders [16,33,40]. A DPL shorter than 30 days and longer than 91–120 days reduced milk production in Lacaune dairy ewes [18]. Our ewes had an adequate DPL, and BCS and metabolite levels after lambing were all within normal physiological ranges, even when taking productivity into account. This observation may explain why our high-yielding ewes did not show metabolic disruptions.

Lamb birth weight was positively associated with subsequent milk yield. These results are similar to those of a previous study that found that dairy cows with high birth weight calves (>40 kg) showed a greater increase in milk production at 305 days than cows with lighter calves (20 or 25 kg) [41]. This may be due to a natural predisposition to give more milk in order to meet the demands of bigger offspring. However, maternal BCS and weight in our study confound the observed relationship between lamb birth weight and subsequent milk yield: larger ewes with higher BCS produced more and gave birth to larger lambs. Male lambs were also generally bigger than female lambs. Unfortunately, our current study design does not allow us to control for these effects. We observed that ewes with male lambs had slightly higher daily milk yield. In contrast, a previous study found that ewes with female or larger lambs produced more milk than ewes with male lambs [21]. However, another study in dairy ewes reported that this effect did not occur [42]. The precise mechanisms by which fetal sex influences mammary gland development remains unknown [43].

In our study, we found that ewes bearing more than one lamb produced more milk than those bearing singletons, which is in agreement with previous studies showing that meat and dairy ewes with more than one offspring produce 3.4–9% more milk and have a lactation length 1% longer than ewes with singletons [19,21,42,44].

## 5. Conclusions

High-yielding Lacaune dairy ewes are better able to meet the metabolic demands of pregnancy and high milk production without showing signs of metabolic stress. As a result, they are able to maintain adequate BW and BCS throughout pregnancy and after lambing, without compromising productivity or fetal development. The highest-yielding animals produce lambs with the highest growth gains and continue to produce high yields in the subsequent lactation. Therefore, maternal productivity and lamb BW are not compromised by high milk yield in farms under the intensive management conditions of this farm [45].

**Supplementary Materials:** Tables S1–S3 are available online at <http://www.mdpi.com/2076-2615/9/6/295/s1>, Table S1: Estimates of Pearson correlation coefficients between lamb birth weight and maternal milk yield in mature ewes stratified by single vs. multiple pregnancies and by BCS score at different stages of pregnancy, Table S2: Estimates of Pearson correlation coefficients between lamb birth weight and maternal metabolite levels at mid-pregnancy (above) or late pregnancy (below) in mature ewes showing low, average, or high milk yield, Table S3: Estimates of Pearson correlation coefficients between milk yield during concurrent gestation and lactation and milk yield during the subsequent lactation in mature ewes with single or multiple pregnancies.

**Author Contributions:** Study design and conceptualization: A.G.-B. and S.A. All authors were involved in carrying out the study. Data analysis: J.L.P.-P., F.H. and S.A. Review and validation of data and manuscript F.H., A.G.-B. and S.A. Data analysis: J.L.P.-P., A.H.-M., L.T.-R., M.V.S.-F., C.G.-C., M.V.-G., P.F., E.C., M.F.-M., F.H., P.M.R. Research design: J.V.G.-M., A.G.-B. and S.A. Research needs: F.H., J.V.G.-M., A.G.-B. and S.A. Data curation: J.L.P.-P., A.H.-M., L.T.-R., M.V.S.-F., C.G.-C., P.M.R. and M.V.-G. Drafting of the manuscript: J.L.P.-P., A.G.-B. and S.A. This manuscript was reviewed and edited by all authors. Figure preparation: J.L.P.-P., A.G.-B. and S.A. Supervision: F.H., J.V.G.-M., A.G.-B. and S.A. Project administration: F.H., J.V.G.-M., A.G.-B. and S.A.

**Funding:** No public funding was given for this research.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank the farm staff for their assistance with animal sampling and Pedro Cuesta and Iagoba Cano (Research Support Center, Universidad Complutense de Madrid) for statistical processing of the data.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Bell, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* **1995**, *73*, 2804–2819. [CrossRef]
2. Davis, A.J.; Fleet, I.R.; Goode, J.A.; Hamon, M.H.; Maule Walker, F.M.; Peaker, M. Changes in mammary function at the onset of lactation in the goat: Correlation with hormonal changes. *J. Physiol.* **1979**, *288*, 33–44.
3. Bell, A.W.; Bauman, D.E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* **1997**, *2*, 265–278. [CrossRef]
4. Joy, M.; Ripoll-Bosch, R.; Sanz, A.; Molino, F.; Blasco, I.; Álvarez-Rodríguez, J. Effects of concentrate supplementation on forage intake, metabolic profile and milk fatty acid composition of unselected ewes raising lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2014**, *187*, 19–29. [CrossRef]
5. Bauman, D.E.; Bruce Currie, W. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* **1980**, *63*, 1514–1529. [CrossRef]
6. Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Faulconnier, Y.; Bonnet, M.; Rouel, J.; Bocquier, F. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* **2000**, *59*, 127–134. [CrossRef]
7. Opsomer, G.; Van Eetvelde, M.; Kamal, M.; Van Soom, A. Epidemiological evidence for metabolic programming in dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* **2017**, *29*, 52–57. [CrossRef] [PubMed]
8. Caldeira, R.M.; Belo, A.T.; Santos, C.C.; Vazques, M.I.; Portugal, A.V. The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Rumin. Res.* **2007**, *68*, 233–241. [CrossRef]
9. Drackley, J.K.; Richard, M.J.; Beitz, D.C.; Young, J.W. Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction and dietary 1,3-butanediol. *J. Dairy Sci.* **1992**, *75*, 1622–1634. [CrossRef]
10. Miller, D.R.; Blache, D.; Jackson, R.B.; Downie, E.F.; Roche, J.R. Metabolic maturity at birth and neonate lamb survival: Association among maternal factors, litter size, lamb birth weight, and plasma metabolic and endocrine factors on survival and behavior. *J. Anim. Sci.* **2010**, *88*, 581–593. [CrossRef] [PubMed]
11. Dunlap, K.A.; Brown, J.D.; Keith, A.B.; Satterfield, M.C. Factors controlling nutrient availability to the developing fetus in ruminants. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2015**, *6*, 16. [CrossRef] [PubMed]



12. Luther, J.; Aitken, R.; Milne, J.; Matsuzaki, M.; Reynolds, L.; Redmer, D.; Wallace, J. Maternal and fetal growth, body composition, endocrinology, and metabolic status in undernourished adolescent sheep. *Biol. Reprod.* **2007**, *77*, 343–350. [\[CrossRef\]](#)
13. Kamal, M.M.; Van Eetvelde, M.; Depreester, E.; Hostens, M.; Vandaele, L.; Opsomer, G. Age at calving in heifers and level of milk production during gestation in cows are associated with the birth size of Holstein calves. *J. Dairy Sci.* **2014**, *97*, 5448–5458. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. González-Recio, O.; Ugarte, E.; Bach, A. Trans-Generational effect of maternal lactation during pregnancy: A Holstein cow model. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e51816. [\[CrossRef\]](#)
15. Swali, A.; Wathes, D.C. Influence of the dam and sire on size at birth and subsequent growth, milk production and fertility in dairy heifers. *Theriogenology* **2006**, *66*, 1173–1184. [\[CrossRef\]](#)
16. Karagiannis, I.; Panousis, N.; Kiossis, E.; Tsakmakidis, I.; Lafi, S.; Arsenos, G.; Boscos, C.; Brozos, C. Associations of pre-lambing body condition score and serum  $\beta$ -hydroxybutyric acid and non-esterified fatty acids concentrations with periparturient health of Chios dairy ewes. *Small Rumin. Res.* **2014**, *120*, 164–173. [\[CrossRef\]](#)
17. Harmeyer, J.; Schlumbohm, C. Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res. Vet. Sci.* **2006**, *81*, 254–264. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Hernandez, F.; Elvira, L.; Gonzalez Martin, J.V.; Astiz, S. Influence of dry period length on reproductive performance and productivity of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *J. Dairy Res.* **2012**, *79*, 352–360. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Pollott, G.E.; Gootwine, E. Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *J. Dairy Sci.* **2004**, *87*, 3690–3703. [\[CrossRef\]](#)
20. Cranston, L.M.; Kenyon, P.R.; Corner Thomas, R.A.; Morris, S.T. The potential interaction between ewe body condition score and nutrition during very late pregnancy and lactation on the performance of twin-bearing ewes and their lambs. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* **2017**, *30*, 1270–1277. [\[CrossRef\]](#)
21. Abecia, J.A.; Palacios, C. Ewes giving birth to female lambs produce more milk than ewes giving birth to male lambs. *Ital. J. Anim. Sci.* **2018**, *17*, 736–739. [\[CrossRef\]](#)
22. Pesántez Pacheco, J.; Heras Molina, A.; Torres Rovira, L.; Sanz Fernández, M.; García Contreras, C.; Vázquez Gómez, M.; Feyjoo, P.; Cáceres, E.; Frías Mateo, M.; Hernández, F.; et al. Influence of maternal factors (Weight, Body Condition, Parity, and Pregnancy Rank) on plasma metabolites of dairy ewes and their lambs. *Animals* **2019**, *9*, 122. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Rook, A.F. The role of carbohydrate metabolism in the regulation of milk production. *Proc. Nutr. Soc.* **1979**, *38*, 309–314. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Woollett, L.A. The origins and roles of cholesterol and fatty acids in the fetus. *Curr. Opin. Lipidol.* **2001**, *12*, 305–312. [\[CrossRef\]](#)
25. Palinski, W. Maternal–fetal cholesterol transport in the placenta. *Circ. Res.* **2009**, *104*, 569–571. [\[CrossRef\]](#)
26. Kaneene, J.B.; Miller, R.A.; Herdt, T.H.; Gardiner, J.C. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. *Prev. Vet. Med.* **1997**, *31*, 59–72. [\[CrossRef\]](#)
27. Novoselec, J.; Speranda, M.; Klir, Z.; Mioc, B.; Steiner, Z.; Antunovic, Z. Blood biochemical indicators and concentration of thyroid hormones in heavily pregnant and lactating ewes depending on selenium supplementation. *Acta Vet. Brno* **2017**, *86*, 353–363. [\[CrossRef\]](#)
28. González-García, E.; Tesniere, A.; Camous, S.; Bocquier, F.; Barillet, F.; Hassoun, P. The effects of parity, litter size, physiological state, and milking frequency on the metabolic profile of Lacaune dairy ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* **2015**, *50*, 32–44. [\[CrossRef\]](#)
29. Meikle, A.; Kulcsar, M.; Chilliard, Y.; Febel, H.; Delavaud, C.; Cavestany, D.; Chilibraste, P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* **2004**, *127*, 727–737. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Douglas, G.N.; Overton, T.R.; Bateman, H.G.; Dann, H.M.; Drackley, J.K. Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* **2006**, *89*, 2141–2157. [\[CrossRef\]](#)
31. Butler, S.T.; Pelton, S.H.; Butler, W.R. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J. Dairy Sci.* **2006**, *89*, 2938–2951. [\[CrossRef\]](#)



32. Katoh, N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* **2002**, *64*, 293–307. [\[CrossRef\]](#)
33. Zobel, G.; Leslie, K.; Weary, D.M.; von Keyserlingk, M.A.G. Ketonemia in dairy goats: Effect of dry period length and effect on lying behavior. *J. Dairy Sci.* **2015**, *98*, 6128–6138. [\[CrossRef\]](#)
34. Holtenius, P.; Holtenius, K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: A review. *J. Vet. Med. Ser. A* **1996**, *43*, 579–587. [\[CrossRef\]](#)
35. Moallem, U.; Rozov, A.; Gootwine, E.; Honig, H. Plasma concentrations of key metabolites and insulin in late-pregnant ewes carrying 1 to 5 fetuses. *J. Anim. Sci.* **2015**, *90*, 318–324. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Nudda, A.; Battaccone, G.; Bee, G.; Boe, R.; Castanares, N.; Lovicu, M.; Pulina, G. Effect of linseed supplementation of the gestation and lactation diets of dairy ewes on the growth performance and the intramuscular fatty acid composition of their lambs. *Animal* **2015**, *9*, 800–809. [\[CrossRef\]](#)
37. Rumball, C.W.H.; Bloomfield, F.H.; Oliver, M.H.; Harding, J.E. Different periods of periconceptual undernutrition have different effects on growth, metabolic and endocrine status in fetal sheep. *Pediatr. Res.* **2009**, *66*, 605–613. [\[CrossRef\]](#)
38. Elvira, L.; Hernandez, F.; Cuesta, P.; Cano, S.; Gonzalez Martin, J.V.; Astiz, S. Factors affecting the lactation curves of intensively managed sheep based on a clustering approach. *J. Dairy Res.* **2013**, *80*, 439–447. [\[CrossRef\]](#)
39. Eastham, N.T.; Coates, A.; Cripps, P.; Richardson, H.; Smith, R.; Oikonomou, G. Associations between age at first calving and subsequent lactation performance in UK Holstein and Holstein-Friesian dairy cows. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e01197764. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Zobel, G.; Weary, D.M.; Leslie, K.E.; Von Keyserlingk, M.A. Invited review: Cessation of lactation: Effects on animal welfare. *J. Dairy Sci.* **2015**, *98*, 8263–8277. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Rahbar, R.; Abdollahpour, R.; Sefidmazi, A.S. Effect of calf birth weight on milk production of holstein dairy cattle in desert climate. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* **2016**, *4*, 65–70. [\[CrossRef\]](#)
42. Ayadi, M.; Matar, A.M.; Aljumaah, R.S.; Alshaiikh, M.A.; Abouheif, M. Factors affecting milk yield, composition and udder health of najdi ewes. *Int. J. Anim. Vet. Adv.* **2014**, *6*, 28–33. [\[CrossRef\]](#)
43. Hinde, K.; Carpenter Abigail, J.; Clay John, S.; Bradford Barry, J. Holsteins favor heifers, not bulls: Biased milk production programmed during pregnancy as a function of fetal sex. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e86169. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Selvaggi, M.; D'Alessandro, A.G.; Dario, C. Environmental and genetic factors affecting milk yield and quality in three Italian sheep breeds. *J. Dairy Res.* **2017**, *84*, 27–31. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Pesantez-Pacheco, J.L.; Torres-Rovira, L.; Hernandez, F.; Sanz-Fernandez, M.V.; Villalobos, N.P.; Heras-Molina, A.; Garcia-Contreras, C.; Vazquez-Gomez, M.; Martinez-Ros, P.; Gonzalez-Martin, J.V.; et al. Efficiency and demographics of a high-yield dairy ewe farm with two managing systems involving five or 10 lambings per year. *Animal* **2018**, *12*, 2181–2190. [\[CrossRef\]](#)



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 5 DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo general del desarrollo experimental correspondiente a esta Tesis Doctoral consistió en el estudio de los factores determinantes de la producción ovina en un sistema intensificado de producción lechera de 10 parideras por año, con especial énfasis en los factores maternos (individuales, productivos y metabólicos) con influencia sobre la progenie. Para la consecución de este objetivo se plantearon dos estudios específicos.

El primero buscaba determinar la eficiencia obtenida con la intensificación máxima del sistema de gestión reproductivo (10 partos/año) en cuanto a parámetros productivos, reproductivos y de bienestar de la granja. El segundo estudio, sobre la base del anterior, pretendía comprobar cómo este sistema intensificado afecta a los perfiles metabólicos y el nivel productivo de las ovejas y cómo estos cambios afectaban a su descendencia.

En los últimos años, los sistemas de producción de leche en España han evolucionado hacia la intensificación; esto implica un aumento del tamaño de las granjas y su número de animales, mejoras en sus instalaciones, ordeño mecanizado, y mejora genética (animales más productivos y con conformación de ubre adaptada al ordeño mecánico), de manejo y nutricional. Además, se ha producido una fuerte profesionalización de las empresas y cambios sustanciales en sus sistemas de gestión, incluyendo la planificación reproductiva (Rodríguez Ruiz, 2013; Rivas Rangel, 2010; Mantecón, 2009).

La planificación reproductiva tiene como objetivo conseguir una distribución lo más uniforme posible de la producción durante el año, minimizando la influencia de la estacionalidad (Vicario *et al.* 2012). El objetivo de la planificación reproductiva es lograr el mayor número de partos/oveja/año, minimizando los días improductivos; esto es, los días que no se ordeñan. La disminución de los días improductivos aumenta la vida productiva medida en base al total de partos y número de días de ordeño (Brand *et al.* 2014; Fogarty y Mulholland, 2013; Lewis *et al.* 1996).

La implementación de un ritmo reproductivo más intensivo busca conseguir un sistema de producción similar al del vacuno lechero, más eficiente económicamente hablando. Sin embargo, debemos estar seguros también de que estos tipos de sistemas no tengan consecuencias negativas sobre el bienestar y salud del rebaño (mayor producción provoca mayor estrés metabólico, menor longevidad y menor salud), ni tenga efecto sobre las generaciones posteriores.

En el presente estudio propusimos un nuevo sistema de programación reproductiva con 10 parideras por año (10–PP), que se asimila a un sistema de prácticamente paridera continua, pero manteniendo la unidad de trabajo (que en ovino es el lote de animales). Las ovejas, en este sistema de 10–PP mostraron una mayor producción total/lactación/oveja, una lactación media más larga, un periodo seco más corto y un intervalo entre partos mayor que en sistemas menos intensificados, como el previo de 5–PP. Se ha demostrado en que la implementación de ritmo reproductivo de dos partos al año (1,5 lactaciones en media) producen un 30% más de leche en ovejas awassi y assaf (Eyal *et al.* 1978).

La producción diaria no difirió significativamente entre ambos sistemas; sin embargo, en el sistema 10–PP se obtuvo un aumento de la producción total/lactación/oveja, que pudo estar asociado a una mayor duración de la lactación y una menor duración del secado (aunque siempre dentro de los intervalos aconsejados, de 30–60 días; Hernandez *et al.* 2012; Bachman y Schairer, 2003; Zobel *et al.* 2015b).

La duración del intervalo entre partos fue levemente mayor durante la implementación del sistema 10–PP en comparación con el sistema 5–PP. Sin embargo, esta diferencia no tuvo consecuencias sobre la productividad del rebaño, resultados que concuerdan con estudios previos en ovejas lecheras (El-Saied *et al.* 2006; Gootwine y Pollott, 2000).

Por lo tanto, la mayor media de producción total/lactación/oveja alcanzada durante la implementación del sistema 10–PP, se relacionaría con un menor

porcentaje de lactaciones improductivas, y un mayor porcentaje de lactaciones extremadamente largas (>350 días en leche) que fue mayor en el sistema 10–PP en comparación con el 5–PP. En algunos estudios se ha demostrado que la implementación de un sistema de gestión reproductiva más intensiva en ovejas con marcada estacionalidad reproductiva provoca disminución de su efectividad en época no reproductiva (Cameron *et al.* 2010). Este efecto no se observó en el presente estudio, probablemente porque la raza Lacaune es menos sensible al fotoperiodo que otras razas (Fleisch *et al.* 2015; Barillet *et al.* 2001). Sin embargo, con el sistema 10–PP si se observa una ligera disminución del número de corderos/oveja/año ( $1,30 \pm 0,01$  vs.  $1,42 \pm 0,01$ ), aun sin diferencia en la prolificidad ( $1,69 \pm 0,8$  vs.  $1,60 \pm 0,1$ ), lo que probablemente se deba a que hay más periodos de apareamiento que se dieron fuera de temporada reproductiva en el sistema 10–PP.

Posteriormente y de acuerdo con la hipótesis de trabajo, comprobamos que un sistema de gestión más intensificado con diez parideras/año, distribuye de una manera más uniforme y equitativa la carga de trabajo del personal a lo largo de todo el año, sin inducir efectos negativos sobre la productividad del rebaño, ni sobre la salud de las ovejas.

De hecho, la mortalidad de los corderos se redujo en el sistema 10–PP en comparación con el sistema 5–PP. Esta circunstancia se asocia directamente a la construcción de una nueva instalación de lactancia artificial implementada en ese periodo de tiempo (Simensen *et al.* 2014). No directamente al sistema nuevo de 10–PP. Sin embargo, dicha inversión sólo fue posible si se implementaba este ritmo reproductivo, ya que permite una ocupación continua y completa (máxima eficiencia) de la misma. Con el sistema de 5–PP la instalación tendría que haber sido el doble (no abordable económicamente por parte de la empresa), y, además, estar desocupada la mitad de los meses. Por lo tanto, también sería una consecuencia positiva (indirecta) de este sistema de 10–PP la reducción de la mortalidad en corderos.

En otros estudios se ha demostrado que la expansión de la ganadería de vacuno-lechero (en cuanto a un mayor número de animales) se acompaña de un aumento de la producción y una mayor rentabilidad y calidad de vida tanto de los productores como de sus operarios (en términos de grado de satisfacción). Además, la expansión de la ganadería trae consigo la inversión en nuevas instalaciones y su mejor aprovechamiento, lo que se traduce en una menor carga de trabajo para los operarios (Bewley *et al.* 2001).

La instauración del sistema 10–PP permitió, por lo tanto, mejorar las condiciones de trabajo de los trabajadores de la granja (menor sobrecarga laboral puntual) y aunque el estudio no tenía esto como objetivo principal, estamos convencidos de que jugó y juega un papel esencial. La relación entre el trabajador, la productividad y la rentabilidad de la granja es directa. El bienestar del trabajador dentro de la granja (mejores condiciones laborales) se ha asociado con un mejor desempeño de éste en las tareas asignadas que se relacionan directamente con la rentabilidad de la granja, se sabe que el rendimiento de un trabajador mejora aún más cuando este cree que están contribuyendo con una actividad que beneficia económicamente a la granja (Stup *et al.* 2006).

Por otro lado, sabemos en base a conversaciones con los trabajadores, que los picos de mortalidad de corderos (problema que ahora no experimentamos) eran un motivo de frustración laboral patente. En otros estudios ya se ha reflejado cómo el factor del bienestar de la plantilla laboral en las granjas de producción animal de vacuno de leche redundó en un mejor manejo sobre los animales, y por ende en mejoras productivas directas (Stup *et al.* 2006; Bewley *et al.* 2001).

Por otro lado, en las parideras, la carga de trabajo/trabajador (medido en partos/trabajador/día y en corderos recién nacidos/trabajador/día) fue menor y se distribuyó de manera uniforme a lo largo de todo el año con el sistema 10–PP en comparación con el 5–PP ( $15,16 \pm 7,83$  vs.  $20,80 \pm 18,73$  partos/trabajador/día). Esta reducción en los partos redundó en una mejor atención de corderos y parturientas por parte de los operarios de granja, ya que un aumento del tiempo dedicado a la observación y cuidado de los corderos

recién nacidos y ovejas ayuda a reducir la mortalidad (Holmøy *et al.* 2012; Nash *et al.* 1996).

Otro dato que puede reflejar beneficios del sistema 10–PP es la existencia de más lactaciones de orden superior ( $\geq 5$ ); es decir, más ovejas de más edad produciendo a un ritmo productivo adecuado, lo que podría relacionarse con una mayor longevidad de las ovejas. Esto se corresponde, además, con la reducción en el porcentaje de eliminación anual del sistema 10–PP, comparado con el sistema 5–PP. Ya anteriormente se demostró que la longevidad de la oveja lechera aumentaba bajo condiciones de manejo intensivo de tres/partos/ en dos años (El-Saied *et al.* 2006).

El segundo planteamiento experimental de la presente Memoria de Tesis Doctoral tenía como finalidad evaluar si un ritmo productivo tan intensificado como el propuesto puede afectar al estado metabólico y la propia productividad de la oveja en sus diferentes etapas fisiológicas (crecimiento, gestación y lactación) y si los posibles cambios en este perfil metabólico pudieran afectar al fenotipo de su descendencia. En otros trabajos en ovino lechero, aunque no se ha comprobado específicamente el perfil metabólico, se ha relacionado negativamente la alta producción lechera con el desempeño reproductivo posterior (Pollott y Gootwine, 2004; Gootwine y Pollott, 2000). Una elevada producción al inicio de la lactación puede retrasar la concepción, debido al estado de balance energético negativo, como se ha demostrado en ganado vacuno lechero (Bouvier-Muller *et al.* 2016; Meikle *et al.* 2004). La implementación de un sistema de gestión reproductivo más intensivo se ha asociado a un mayor requerimiento de nutrientes–energía anual por parte de la oveja (De Nicolo, 2007). Por lo tanto, el manejo de la alimentación antes del inicio del periodo de apareamiento condiciona el éxito reproductivo y productivo del rebaño.

Así pues, una vez decidido el ritmo reproductivo de la granja, se valoró si la intensificación del ritmo reproductivo y productivo y el desafío metabólico inducido en los animales repercutía en los niveles productivos y en la vitalidad y

desempeño de sus corderos. Es obvio que el estado metabólico de la oveja se ve afectado durante estados fisiológicos de alto requerimiento de energía como la gestación y lactación (Swali y Wathes, 2007). Durante la lactación las células secretoras de la glándula mamaria utilizan el 80% de los metabolitos circulantes en sangre para la síntesis de leche (Mohammadi *et al.* 2016); principalmente aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, etc. (Karapehlivan *et al.* 2007). En casos de concomitancia de la lactación con la gestación, la oveja debe ser capaz de suministrar los nutrientes necesarios, tanto para el mantenimiento de la lactación como para el desarrollo y crecimiento del feto, sin que estas exigencias de energía causen trastornos metabólicos (Bell y Bauman, 1997).

Además, existen otros factores (raza, edad, estado nutricional, nivel productivo o tipo de gestación) que afectan al metaboloma de la oveja (Piccione *et al.* 2012). Nuestros resultados corroboran esta información ya que indican que la magnitud del desafío metabólico impuesto por la gestación depende principalmente de la edad de la oveja (adulto vs. cordera), del tipo de gestación (simple vs. múltiple), y de su interacción, como también señalan otros autores en ovejas de leche (González-García *et al.* 2015) y carne (Miller *et al.* 2010).

En el caso de las corderas, las necesidades para finalizar su propio crecimiento se solapan con las grandes demandas debidas a la gestación tardía y posteriormente a la lactación (que comienzan ya antes del parto); además, esto se ve agravado por la menor capacidad de ingesta, como se ha observado en vacas primíparas lecheras (Meikle *et al.* 2004).

En la oveja, tanto adulta como cordera, estas situaciones provocan cambios en la condición corporal y la disponibilidad plasmática de diferentes metabolitos, como ya se ha señalado en estudios realizados en ovejas (Bouvier-Muller *et al.* 2016; Karagiannis *et al.* 2014) y vacas lecheras (Meikle *et al.* 2004). En los resultados obtenidos en el presente estudio destacan variaciones en la condición corporal en función de la edad y el nivel productivo. Sin embargo, en nuestro estudio, el tipo de gestación (simple o múltiple) no mostró influencia sobre cambios en condición corporal, ni en corderas ni en adultas. Estos

resultados concuerdan con estudios previos que sugieren que esta diferencia de peso podría deberse al tamaño de la camada (Pettigrew *et al.* 2019), y refleja el mantenimiento de la integridad individual de los animales cuando se manejan y alimentan adecuadamente.

En las corderas se observaron cambios más intensos en los metabolitos plasmáticos a medida que avanza la gestación que en ovejas adultas y muy relacionados con su condición corporal. Los niveles de glucosa en corderas aumentaron durante el postparto, principalmente en las corderas con una mayor condición corporal durante toda la gestación, siendo estas corderas las que mostraron un nivel mayor de glucosa en el postparto, en forma similar a datos previos en ovejas de carne (Verbeek *et al.* 2012). Esto puede indicar que las corderas con una mayor condición corporal no pueden regular de manera eficiente las concentraciones de glucosa en comparación con las corderas de menor condición corporal (Verbeek *et al.* 2012). Estos datos, teniendo siempre en cuenta que tanto concentraciones de glucosa como condición corporal siempre estaban en rangos fisiológicos, podrían reflejar una mayor capacidad de producción láctea en animales con mejor CC, que presentarían una mayor disponibilidad de glucosa.

El tipo de gestación parece tener un efecto sobre la capacidad de las ovejas para mantener niveles estables de glucosa durante toda la gestación y en el postparto. El incremento de glucosa fue más ligero en ovejas con gestación simple que en aquellas con gestación múltiple, durante todo el periodo de estudio e independientemente de su edad (adultas o corderas). Estos resultados son similares a estudios previos donde se demostró que la concentración de glucosa en ovejas disminuye con el aumento del número de fetos gestados (Moallem *et al.* 2012; Raoofi *et al.* 2013). Otro dato para resaltar es que los niveles de colesterol y triglicéridos durante la gestación se mantuvieron constantes. Tras el parto, la concentración de colesterol disminuyó en las ovejas adultas mientras que aumentó en las corderas; siendo, además, este incremento más pronunciado en corderas con gestación múltiple que en corderas con gestación simple, lo que refleja una mayor movilización de las lipoproteínas



almacenadas en hígado durante el final de gestación (Roche *et al.* 2015), y por ende una mayor demanda metabólica en estos animales.

Por otro lado, los triglicéridos disminuyeron, tanto en las ovejas adultas como corderas, en forma similar a los resultados observados en otras razas de ovejas (Piccione *et al.* 2009), y que reflejarían su utilización para la lactación, ya que se consideran una fuente de energía de fácil disposición para cualquier proceso metabólico (Caton & Hess, 2010; Pinent *et al.* 2008). De nuevo, se observa una interacción con el estado nutricional de las ovejas, y aquellas de mayor condición corporal presentaron mayores niveles de colesterol y triglicéridos.

El lactato es una fuente de energía esencial para la producción láctea en rumiantes (Drackley *et al.* 2001). En el presente trabajo se observó que ovejas con gestación simple presentaban, a final de gestación, una disminución más pronunciada que en las de gestación múltiple, siendo, además, las de menor condición corporal (ovejas adultas y corderas) las que peor se adaptaron a las exigencias de energía durante final de la gestación. En cuanto al catabolismo proteico, reflejado por los niveles de urea (Canfield *et al.* 1990), se observa una disminución más pronunciada en adultas que en corderas durante la gestación (reflejando la necesidad más pronunciada en las adultas de recurrir a las fuentes proteicas para cubrir las demandas metabólicas de la lactación; (Antunović *et al.* 2002), y de nuevo, los animales con mejor condición corporal mostraron una mayor/mejor recuperación de los niveles de urea postparto. Estos resultados son similares a los descritos en ovejas de carne (Seidel *et al.* 2006) y pueden reflejar una salida más rápida del periodo de déficit energético en el postparto en aquellos animales con leve sobrealimentación y aumento de la producción de amoníaco ruminal y un exceso de compuestos nitrogenados exógenos que son absorbidos desde el intestino y que no pueden ser almacenados en el organismo (Caldeira *et al.* 2007).

Estas demandas metabólicas concordaron con los niveles observados de  $\beta$ HB y NEFA. Los NEFA son el reflejo del catabolismo lipídico y aumentan cuando el metabolismo de la glucosa es deficiente (Bell, 1995). Así, disminuyeron en las

corderas desde mitad de gestación hasta el parto y en el postparto, mientras que en las adultas aumentaron durante toda la gestación y disminuyeron en el postparto. Los NEFA son el principal sustrato para la síntesis de  $\beta$ HB y, así, un aumento de la concentración de  $\beta$ HB indica una oxidación incompleta de NEFA en el momento de balance energético negativo (Doepel *et al.* 2002), lo que explica momentos en los que aumenta el  $\beta$ HB y disminuyen los NEFA.

En nuestro estudio, los niveles plasmáticos de  $\beta$ HB aumentaron durante toda la gestación y en el postparto en todos los animales; aunque fueron las corderas las que mostraron un aumento más pronunciado, reflejando de nuevo una mayor demanda metabólica (Joy *et al.* 2014). Sin embargo, el tipo de gestación no afectó las concentraciones de  $\beta$ HB, lo que concuerda con estudios previos en situaciones de adecuados aportes nutricionales de manejo (Kenyon *et al.* 2007). En otros estudios en ganado ovino sí se señalan efectos del tipo de gestación así como sobre los niveles de  $\beta$ HB, lo que podría deberse a que estos estudios se realizaron en ovejas de carne, poco adaptadas a la producción láctea (Seidel *et al.* 2006; Moallem *et al.* 2012).

La condición corporal de la oveja también afectó a las concentraciones de  $\beta$ HB. Las ovejas adultas con menor condición corporal al final de gestación mostraron, en ese momento, un pico de  $\beta$ HB con una disminución mucho más pronunciada después del parto. Este perfil podría ser el reflejo de un mayor desafío metabólico de estas ovejas en el último tercio de la gestación, donde ocurre el crecimiento exponencial del feto y el tejido mamario se prepara para el inicio de una nueva lactación (Raoofi *et al.* 2013). Asimismo, este resultado puede ser debido al hecho que estas ovejas producen menos leche después del parto en comparación con las ovejas de mayor condición corporal ( $1,41 \pm 0,53$  vs.  $2,28 \pm 0,73$  l/d), por lo que muestran una recuperación metabólica más rápida.

El nivel productivo se considera un fuerte reto metabólico para las ovejas (Mikolayunas-Sandrock *et al.* 2009; Cannas *et al.* 2002). Así pues, en nuestro estudio, los animales de mayor producción mostraron una disminución pronunciada del peso y de la condición corporal después del parto, lo que no se

observó en ovejas de menor producción. Esta disminución reflejaría el fuerte desafío metabólico impuesto por el nivel de producción lácteo, que ocasiona un estado de balance energético negativo postparto (Bouvier-Muller *et al.* 2016; Meikle *et al.* 2004). Asimismo, estas ovejas de mayor producción presentaron en el postparto unos niveles mayores de  $\beta$ HB y menores de NEFA, lo que indica que movilizaban reservas corporales. Por el contrario, en las condiciones de nuestro estudio, no podemos deducir si las ovejas menos productoras mantenían su condición corporal estable durante la gestación y el postparto por tener un menor desafío metabólico o, si estas ovejas producían menos porque metabólicamente no eran capaces de movilizar sus reservas corporales a un ritmo adecuado. El hecho de movilizar reservas corporales es positivo, siempre que se mantenga la homeostasis metabólica, porque se disminuye el periodo de BEN (balance energético negativo) hasta que los animales son capaces de aumentar la ingesta diaria media. Se considera que una pérdida moderada de condición corporal de hasta 0,5 puntos mejoraría la capacidad cetogénica, al incrementar la gluconeogénesis hepática; por el contrario, una pérdida  $> 0,75$  ocasionaría una excesiva lipomovilización, incrementando las concentraciones de NEFA y ocasionando una excesiva acumulación de lípidos en el hígado (Emery *et al.* 1992; Kaneko, 1997; Strang *et al.* 1998). Por tanto, las ovejas de mayor producción son capaces de producir y a la vez, mantener su buen estado fisiológico. Estos cambios son similares a los descritos anteriormente en novillas y ovejas (Bell, 1995; Joy *et al.* 2014; Katoh, 2002). En el presente estudio los niveles de  $\beta$ HB y NEFA siempre estuvieron dentro de los límites fisiológicos, lo que refleja la ausencia de un estado de estrés metabólico a pesar del alto nivel de producción. Esto indica también que el régimen de alimentación en nuestras ovejas de alta producción lechera habría sido suficiente y adecuado para cubrir los requerimientos de mantenimiento, gestación y lactación; sin ocasionar un estado de balance energético negativo real prolongado o tan grave como para inducir patologías.

Así pues, podemos concluir que, aunque el perfil metabólico de nuestros animales se encontraba influido por diferentes factores (fase productiva, fase de gestación, edad, tipo de gestación y condición corporal), no se observaron

variaciones que indujeran a situaciones patológicas en las ovejas, sino que mantuvieron una homeostasis estable. Esto indica que el régimen de alimentación de la granja es suficiente y adecuado para cubrir los requerimientos de mantenimiento, gestación y lactación, incluso en altos niveles de producción.

### 5.1 Características de la descendencia

Aun en madres en condiciones adecuadas, desconocemos si las variaciones metabólicas descritas pueden influir en el crecimiento y desarrollo fetal, debido a cambios en el ambiente uterino, que puedan afectar la salud y productividad de la descendencia (Kenyon y Blair, 2014; Kamal *et al.* 2014; Swali y Wathes, 2006). La fecundación da lugar al desarrollo de un embrión y desde ese momento se inicia una serie de procesos fisiológicos y moleculares que permiten el intercambio de señales entre la madre y el embrión que dará como resultado la implantación del embrión. Una vez implantado el embrión, empieza el proceso de embriogénesis hasta convertirse en un feto; estos aspectos biológicos que involucran el desarrollo del feto desde su concepción hasta su nacimiento se conocen relativamente bien (Dziuk, 1992; Spencer *et al.* 2004). Sin embargo, desconocemos en qué medida los factores medioambientales (en este caso, maternos o intrauterinos; epigenéticos) puede afectar al desarrollo intrauterino del feto. Este tipo de factores pueden influir en cualquier momento de la gestación y repercutir en el crecimiento, salud y productividad durante toda la vida postnatal e incluso pueden transmitirse a la siguiente generación, independientemente de la herencia de ADN (Kenyon y Blair, 2014).

En nuestro estudio, el peso al nacimiento de los corderos se encontró dentro de los valores fisiológicos determinados para la raza Lacaune (hembras  $3,90 \pm 0,7$  y machos  $4,6 \pm 0,2$  kg) (Marie *et al.* 2002; Thomas *et al.* 2014). El peso al nacimiento del cordero tiene gran importancia sobre su desarrollo y su futuro desempeño productivo (Brien *et al.* 2014; Caton y Hess, 2010; Gardner *et al.* 2007); por ello, estudiamos las características fenotípicas y metabólicas de los corderos con bajo peso al nacimiento ( $< 3\text{kg}$ ), que se encontraba afectado por la edad de la madre (11,4 vs. 35,2 % ovejas adultas y corderas respectivamente)

en forma similar a lo previamente publicado en otros estudios (Corner *et al.* 2013; Loureiro *et al.* 2012; Notter *et al.* 2005). Además de la edad, el tipo de gestación es también un factor predisponente al nacimiento de corderos de bajo peso (Gootwine *et al.* 2007).

Además, la edad de la oveja condiciona la supervivencia del cordero de bajo peso al nacimiento, y así los corderos nacidos de ovejas primíparas tienen una probabilidad de supervivencia más baja que los corderos nacidos de multíparas (Kenyon y Blair, 2014). En el presente estudio, los corderos con bajo peso al nacimiento tenían una ganancia media diaria de peso más bajo en forma similar a estudios llevados a cabo en ovinos de carne (Juengel *et al.* 2018). El bajo peso al nacimiento se ha asociado con una baja tasa de supervivencia en el periodo postnatal en corderos (Juengel *et al.* 2018; Gootwine y Rozov, 2006), y la tasa de mortalidad de corderos que pesan menos de 3,5 kg está entre 5 y 45% (Sawalha *et al.* 2007), además, los corderos con bajo peso que sobreviven experimentan una mayor morbilidad y un crecimiento postnatal más lento.

La tasa de mortalidad de los corderos observada en nuestro estudio hasta la edad de 17 días fue de 5,82% (34/584) y de éstos el 47% (16/34) eran corderos de bajo peso y 53% (18/34) con peso normal.

Los machos con bajo peso al nacer mostraron un mejor índice de masa corporal a los 17 días (IMC-2) que las hembras, siendo el IMC-2 en estos corderos machos similar al alcanzado por los corderos con peso normal al nacimiento ( $57,6 \pm 11,92$  vs.  $56,5 \pm 10,02$ ; kg/m<sup>2</sup>), lo que sugiere un estado de engrasamiento (Greenwood *et al.* 1998). No obstante, las hembras con bajo peso al nacer no mostraron este crecimiento compensatorio postnatal, en contra de lo señalado en otros estudios previos (Duffield *et al.* 2009; Rae *et al.*, 2002). Los corderos con bajo peso tuvieron bajas concentraciones de NEFA y urea pero altos niveles de colesterol, en coincidencia con estudios anteriores en ovino de carne (Duffield *et al.* 2009; Greenwood y Bell, 2003), y podría ser el reflejo de una baja tasa catabólica de los corderos de bajo peso al nacimiento, debido a

su baja disposición de reservas corporales de grasa y proteína en forma de músculo (Ramos Nieves *et al.* 2010; Thorn *et al.* 2011; Chniter *et al.* 2013).

En cuanto a los factores analizados que pudieran afectar al peso al nacimiento de los corderos en nuestro sistema intensivo de producción láctea, analizamos la edad, tipo de gestación y CC de la madre.

Los corderos nacidos de corderas (primíparas) y de gestaciones múltiples (independientemente de la edad) pesaron menos al nacimiento. En primíparas, aún en crecimiento, se ha demostrado que el bajo peso al nacimiento se debe a la competición entre la madre y el feto por los nutrientes, principalmente durante el último tercio de gestación (Gootwine *et al.* 2007; Luther *et al.* 2007). Por otro lado, el mayor peso de los corderos nacidos de ovejas adultas podría asociarse a un mejor estado metabólico (mayores niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos, como se ha demostrado en nuestro trabajo), lo que concuerda con los estudios realizados en ovejas de carne (Greenwood *et al.* 1998).

El efecto de la multiparidad ya se demostró en ovejas assaf, asociándose directamente a la disminución del peso al nacimiento por una reducción de la capacidad uterina y placentaria de la oveja para aportar los nutrientes necesarios durante el desarrollo fetal (Moallem *et al.* 2012). Sin embargo, en nuestro estudio, estos corderos más ligeros mostraron un mayor crecimiento compensatorio postnatal, en forma similar demostrado en ovejas de carne (Greenwood *et al.* 1998). Esto concuerda con la hipótesis del “genotipo ahorrador” que postula que los animales con retraso en el crecimiento intrauterino se adaptan metabólicamente a esta situación y posteriormente son capaces de hacer frente a un entorno de baja disponibilidad de energía postnatal (Gonzalez-Bulnes y Ovilo, 2012). También se enlaza a otros estudios en bovino demostrando que el bajo peso al nacer no tiene efecto sobre la futura fertilidad o productividad en adecuadas condiciones postnatales (Swali y Wathes, 2006).

Además, también observamos que los recién nacidos de ovejas con mayor condición corporal pesaron más y mostraron mayores concentraciones de  $\beta$ HB, lo que señalaría un metabolismo lipídico más activo (Miller *et al.* 2010). Estos

resultados concuerdan con estudios realizados en ovino de carne donde se midió la condición corporal en mitad y/o final de gestación (Corner-Thomas *et al.* 2015; Kenyon *et al.* 2004). Sin embargo, otros estudios no encontraron una relación positiva entre la condición corporal de la oveja y el peso al nacer del cordero (Cranston *et al.* 2017; Cripps *et al.* 2008).

Otro factor determinante podría ser el nivel productivo de la madre. En estudios en vacuno lechero se ha demostrado que la alta producción lechera en vacas durante los estados de desarrollo embrionario y fetal se asocia con reducidos rendimientos productivos y longevidad de su descendencia (Berry *et al.* 2008; González-Recio *et al.* 2012), debido a deficiencias en el perfil endocrino durante la vida postnatal (Kamal *et al.* 2015). En bovino también se ha observado que las terneras de madres que estaban en lactación producían menos leche, vivían menos y eran metabólicamente menos eficientes que las hembras de madres novillas (gestando sin lactación; González-Recio *et al.* 2012). Sin embargo, en nuestro estudio, el nivel productivo de la oveja no tuvo efecto sobre el peso, tamaño ni índice de masa corporal (IMC) de sus corderos al nacimiento. Incluso a los 17 días de edad, los corderos nacidos de las ovejas con mayor producción pesaron más que los corderos nacidos de ovejas de producción media y baja ( $9,63 \pm 1,80$  vs.  $8,88 \pm 2,04$ ;  $7,40 \pm 1,68$ ; kg). Estos resultados sugieren que las ovejas de mayor producción son capaces de enfrentarse a los desafíos metabólicos que impone la lactación concomitante con gestación sin problemas. De hecho, fueron estas ovejas las que tuvieron mayores niveles de glucosa y colesterol durante toda la gestación, niveles más bajos de  $\beta$ HB y NEFA durante final de la gestación y una mayor CC.

Aunque estudios previos desarrollados en razas de ovejas de carne demostraron que el desafío metabólico de la madre afectó al peso al nacimiento del cordero (Luther *et al.* 2007; Moallem *et al.* 2015), las ovejas de nuestro estudio con mayores producciones demuestran una mejor adaptación al desafío metabólico impuesto; al menos en las condiciones de la granja en estudio.

## 5.2 Factores determinantes de producción láctea

Finalmente comprobamos los factores que, en este sistema intensivo de producción, pudieran afectar a la productividad lechera del rebaño.

Los parámetros de productividad de las ovejas adultas durante la lactación concomitante con gestación fueron similares a los de la subsiguiente lactación. Estudios previos en ovejas lecheras de raza lacaune, assaf y awassi han demostrado que la producción de la lactación estudiada se correlaciona positivamente con la producción en la siguiente lactación; lo que indica que las ovejas de manera individual tienden a mantener el mismo nivel de producción durante toda su vida (Hernandez *et al.* 2012; Elvira *et al.* 2013b; Pollott y Gootwine, 2004; Gootwine y Pollott, 2000), asociación demostrada también en vacas lecheras (Eastham *et al.* 2018). Estos resultados corroboran que la productividad está fuertemente influida por un componente genético hereditario (Eastham *et al.* 2018), que se usa como parámetro de selección.

Las ovejas de alta producción mostraron altos niveles plasmáticos de glucosa, lactato,  $\beta$ HB y urea, pero bajos niveles de triglicéridos y NEFA en comparación con las ovejas de menor producción, al final de la gestación y después del parto. Observamos también que las ovejas con alta producción durante la lactación concurrente con gestación tuvieron un mayor peso y condición corporal durante toda la gestación y fueron éstas las que tuvieron una mayor producción durante la lactación subsiguiente. Estas diferencias sugieren que las ovejas de menor producción se enfrentan a un menor esfuerzo metabólico, mientras que las ovejas de mayor producción experimentan y se adaptan a un mayor desafío metabólico al final de la gestación. En las condiciones del presente estudio, no es posible determinar si lo que observamos metabólicamente es causa o efecto de los niveles productivos. Pero podemos afirmar en base a nuestros resultados, que el nivel productivo impone diferencias metabólicas, compatibles en todo caso, con la salud de las ovejas.

La producción de leche subsiguiente puede verse influida también por factores considerados históricamente, como los son, el sexo y peso de la descendencia,



tanto en vacas (Hinde *et al.* 2014; Hess *et al.* 2016; Græsbøll *et al.* 2015; Gillespie *et al.* 2017), como en ovejas lecheras (Abecia y Palacios, 2018). En vacas lecheras se ha observado que aquellas que paren un ternero de mayor peso (>40 kg) producen más en comparación con las que paren un ternero más liviano (20-25 kg) (Rahbar *et al.* 2016). En nuestro estudio, las ovejas que parieron corderos con mayor peso produjeron también más en la lactación siguiente. Esta asociación entre un mayor peso con una mejor producción subsiguiente podría ser debido a una mayor concentración de estrógenos y lactógeno placentario durante la gestación (Akers, 1985; Akers, 2016). Sin embargo, el peso y la condición corporal materna en nuestro estudio confunden la relación observada entre el peso al nacimiento del cordero y la producción de leche subsiguiente ya que las ovejas con una mayor condición corporal fueron también las que produjeron más leche. Por ello, no podemos separar el efecto sobre la producción de las ovejas inducido por el tamaño del cordero del inducido por la condición corporal de la madre.

Algo parecido nos ocurre con el efecto del sexo del cordero. Se ha demostrado que el tamaño de la camada durante la gestación influye en el desarrollo de la glándula mamaria en ovinos (Rattray *et al.* 1974) y en el volumen de leche en cabras (Hayden *et al.* 1979). Las ovejas de nuestro estudio que paren más de un cordero fueron las que produjeron más leche durante la lactación subsiguiente. Estos resultados están en línea con los reportados por Abecia y Palacios (2018), quienes encontraron que las ovejas que gestan más de un cordero tiene una producción mayor después del parto; estos mismos autores sugieren que estas ovejas podrían producir entre un 3-9% más de leche en comparación con ovejas que paren un solo cordero. En otro estudio, realizado en ovejas lecheras bajo producción intensiva, se demostró que el nivel de producción está afectada por el tamaño de la camada; así, las ovejas con partos gemelares o con trillizos producían aproximadamente 20 litros más por lactación que las ovejas de parto simple (Pollott y Gootwine, 2004; Gootwine y Pollott, 2000). Un aumento del número de fetos gestados es acompañado por un aumento del tamaño de la placenta, que resulta en el incremento de los niveles

de estrógeno y lactógeno placentario que, a su vez, provoca un aumento en el desarrollo del tejido mamario de la oveja (Akers, 1985; Akers, 2016).

Todos estos resultados sugieren que la implementación de un ritmo reproductivo más intensificado en una granja de ovino lechero de altas productoras es compatible con la productividad, con el bienestar y con la salud de las ovejas, de sus corderos y de la plantilla a cargo de ellos.

## 6 CONCLUSIONES

1. La implementación de un sistema de gestión reproductivo de 10 parideras/año en ovejas lecheras Lacaune no afecta al peso, condición corporal y perfil metabólico de los animales y se asocia a mayor duración y cantidad de producción de leche en cada lactación, mayor longevidad de cada oveja y menor porcentaje de lactaciones improductivas, menor mortalidad en corderos, uso más eficiente de los recursos disponibles y mayor bienestar de los trabajadores por una distribución más homogénea de la carga de trabajo a lo largo de todo el año.
2. En este sistema productivo, la edad de la oveja es el principal factor determinante en la evolución del peso y la condición corporal y los parámetros metabólicos durante la gestación; hembras primíparas (corderas), especialmente aquellas con gestación múltiple, presentan un desafío metabólico impuesto por la gestación más intenso que el de las ovejas adultas, con gestación simple o múltiple.
3. Existe una relación significativa entre el nivel de producción lechera y los cambios en el peso, la condición corporal y el metabolismo; ovejas con mayor producción lechera mostraron niveles más altos de glucosa, colesterol,  $\beta$ HB, NEFA y urea, y menores de triglicéridos y lactato durante toda la gestación y mantuvieron mayor peso y condición corporal al final de la gestación.
4. El peso al nacimiento del cordero se ve afectado por su propio sexo y la edad, condición corporal, tipo de gestación y producción lechera de la madre, exceptuando que los corderos nacidos de madres con alta producción durante el mes de concepción pesaron más al nacimiento que los nacidos de madres con baja producción en ese periodo.
5. Por el contrario, los índices metabólicos de los corderos no se ven afectados por estos factores maternos, pero sí por su propio sexo en el caso de la glucosa, el colesterol y los triglicéridos.

6. El nivel productivo en la lactación siguiente se ve afectado por factores de la propia oveja como su edad, incremento de condición corporal, tipo de gestación (simple o múltiple), siendo las ovejas adultas con gestación múltiple las de mayor rendimiento, y el perfil metabólico durante la gestación, siendo las ovejas con menor movilización de reservas corporales las que tuvieron las más altas producciones después del parto. Existen, además factores del cordero, como su peso y su sexo; siendo las ovejas que parieron un cordero macho más pesado las de mayor rendimiento.

## 7 REFERENCIAS

Abecia, J. A., y C. Palacios. 2018. Ewes giving birth to female lambs produce more milk than ewes giving birth to male lambs. *Ital. J. Anim. Sci.* 17:736-739. doi:10.1080/1828051X.2017.1415705.

Acero Adámez, P. 2009. Planificación y manejo de la explotación de ovino de leche. En: Consejería de Agricultura y Ganadería, editor. *Ovino de Leche*. Vol. IV. Primera. Valladolid. p. 1-111.

Addah, W., P. K. Karikari, y J. Baah. 2012. Under nutrition in the ewe: Foeto-placental adaptation, and modulation of lamb birth weight: A review. *Livest. Res. Rural Dev.* 24:10.

AGRP0001838D. 2001. Décret du 22 janvier relatif à l'appellation d'origine contrôlée Roquefort. Francia.

Akers, M. R. 1985. Lactogenic hormones: binding sites, mammary growth, secretory cell differentiation, and milk biosynthesis in ruminants. *J. Dairy Sci.* 68:501-519. doi:10.3168/jds.S0022-0302(85)80849-3.

Akers, M. R. 2016. Endocrine, growth factor, and neural regulation of mammary development. En: *Lactation and the Mammary Gland*. Blackwell Publishing Company, Ames, Iowa. p. 129-164.

Alexander, G. 1974. Heat loss from sheep. En: Monteith J L and Mount L E, editor. *Heat Loss from Animals and Man*. Butterworth, London. p. 1-476.

Allen, D. B., E. J. DePeters, y R. C. Laben. 1986. Three times a day milking: Effects on milk production, reproductive efficiency, and udder health. *J. Dairy Sci.* 69:1441-1446. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80553-7.

Amaral-Phillips, D. M., A. D. McGilliard, G. L. Lindberg, J. J. Veenhuizen, y J. W. Young. 1993. Effects of decreased availability of glucose for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:752-761. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77399-3.

- Antunović, Z., Đ. Senčić, M. Šperanda, y B. Liker. 2002. Influence of the season and the reproductive status of ewes on blood parameters. *Small Rumin. Res.* 45:39-44. doi:10.1016/S0921-4488(02)00109-8.
- Armitage, J. A., I. Y. Khan, P. D. Taylor, P. W. Nathanielsz, y L. Poston. 2004. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals? *J. Physiol.* 561:355-377. doi:10.1113/jphysiol.2004.072009.
- ASSAF.E. 2019. Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de la Raza Assaf. Distrib. Geográfica.
- Ayadi, M., A. M. Matar, R. S. Aljumaah, M. A. Alshaikh, y M. Abouheif. 2014. Factors affecting milk yield, composition and udder health of Najdi ewes. *Int. J. Anim. Vet. Adv.* 6:28-33. doi:10.19026/ijava.6.5613.
- Ayadi, M., X. Such, N. Ezzehizi, M. Zouari, T. Najar, M. Ben M' Rad, y R. Casals. 2011. Relationship between mammary morphology traits and milk yield of Sicilo-Sarde dairy sheep in Tunisia. *Small Rumin. Res.* 96:41-45. doi:10.1016/j.smallrumres.2010.10.013.
- Bachman, K. C., M. J. Hayen, D. Morse, y C. J. Wilcox. 1988. Effect of pregnancy, milk yield, and somatic cell count on bovine milk fat hydrolysis. *J. Dairy Sci.* 71:925-931. doi:10.3168/jds.S0022-0302(88)79638-1.
- Bachman, K. C., y M. L. Schairer. 2003. Invited review: ovine studies on optimal lengths of dry periods,. *J. Dairy Sci.* 86:3027-3037. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73902-2.
- Bagnicka, E., O. Distl, H. Hamann, y M. Lukaszewicz. 2004. Heritabilities of and genetic correlations between the dairy traits in goats estimated in first vs. later lactations. *Anim. Sci. Pap. Reports.* 22:205-213.
- Baird, G. D., J. G. Van Der Walt, y E. N. Bergman. 1983. Whole-body metabolism of glucose and lactate in productive sheep and cows. *Br. J. Nutr.* 50:249-265. doi:10.1079/BJN19830094.

- Baloche, G., A. Legarra, G. Sallé, H. Larroque, J.-M. Astruc, C. Robert-Granié, y F. Barillet. 2014. Assessment of accuracy of genomic prediction for French Lacaune dairy sheep. *J. Dairy Sci.* 97:1107-1116. doi:10.3168/jds.2013-7135.
- Barillet, F. 2007. Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 70:60-75. doi:10.1016/j.smallrumres.2007.01.004.
- Barillet, F., G. Lagriffoul, P. Marnet, H. Larroque, R. Rupp, D. Portes, F. Bocquier, y J. M. Astruc. 2016. Objectifs de sélection et stratégie raisonnée de mise en œuvre à l'échelle des populations de brebis laitières françaises. *INRA Prod. Anim.* 29:19-40.
- Barillet, F., C. Marie, M. Jacquin, G. Lagriffoul, y J. . Astruc. 2001. The French Lacaune dairy sheep breed: use in France and abroad in the last 40 years. *Livest. Prod. Sci.* 71:17-29. doi:10.1016/S0301-6226(01)00237-8.
- Bauman, D. E., y W. Bruce Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63:1514-1529. doi:10.3168/jds.S0022-0302(80)83111-0.
- Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73:2804. doi:10.2527/1995.7392804x.
- Bell, A. W., y D. E. Bauman. 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 2:265-278. doi:10.1023/A:1026336505343.
- Bennett, J. 1972. The maximum metabolic response of sheep to cold: effects of rectal temperature, shearing, feed consumption, body posture, and body weight. *Aust. J. Agric. Res.* 23:1045. doi:10.1071/AR9721045.
- Berry, D. P., P. Lonergan, S. T. Butler, A. R. Cromie, T. Fair, F. Mossa, y A. C. O. Evans. 2008. Negative Influence of High Maternal Milk Production Before and After Conception on Offspring Survival and Milk Production in Dairy Cattle. *J.*

Dairy Sci. 91:329-337. doi:10.3168/jds.2007-0438.

Bewley, J., R. W. Palmer, y D. B. Jackson-Smith. 2001. An overview of experiences of wisconsin dairy farmers who modernized their operations. J. Dairy Sci. 84:717-729. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74526-2.

Bizelis, J. A., M. A. Charismiadou, y E. Rodkais. 2000. Metabolic changes during the perinatal period in dairy sheep in relation to level of nutrition and breed. II. Early lactation. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl). 84:73-84. doi:10.1046/j.1439-0396.2000.00283.x.

Bocquier, François, y G. Caja. 2004. Effect of nutrition on milk quality. En: Y. Berger, P. Billon, Francois Bocquier, G. Caja, A. Cannas, B. McKusick, P. G. Marnet, y D. L. Thomas, editores. Principles of sheep dairying in North America. UW Extension, Madison, Wisconsin. p. 1-156.

BOE. 2019. Boletín Oficial Del Estado. Disponible en: <http://www.boe.es>

Bormann, J., G. R. Wiggans, T. Druet, y N. Gengler. 2002. Estimating effects of permanent environment, lactation stage, age, and pregnancy on test-day yield. J. Dairy Sci. 85:263.e1-263.e21. doi:10.3168/jds.s0022-0302(02)74076-9.

Bouvier-Muller, J., C. Allain, F. Enjalbert, G. Tabouret, D. Portes, C. Caubet, C. Tasca, G. Foucras, y R. Rupp. 2016. Response to dietary-induced energy restriction in dairy sheep divergently selected for resistance or susceptibility to mastitis. J. Dairy Sci. 99:480-492. doi:10.3168/jds.2015-9785.

Brameld, J. M., y Z. C. T. R. Daniel. 2008. In utero effects on livestock muscle development and body composition. Aust. J. Exp. Agric. 48:921. doi:10.1071/EA08017.

Brand, T. S., S. Terblanche, y J. W. Jordaan. 2014. Conception rate and fecundity of Dohne Merino ewes in a continuous mating system. South African J. Anim. Sci. 44:S64-S69. doi:10.4314/sajas.v44i5.13.

Brien, F. D., S. W. P. Cloete, N. M. Fogarty, J. C. Greeff, M. L. Hebart, S.



- Hiendleder, J. E. H. Edwards, J. M. Kelly, K. L. Kind, D. O. Kleemann, K. L. Plush, y D. R. Miller. 2014. A review of the genetic and epigenetic factors affecting lamb survival. *Anim. Prod. Sci.* 54:667. doi:10.1071/AN13140.
- Brotherstone, S., R. Thompson, y I. M. . White. 2004. Effects of pregnancy on daily milk yield of Holstein–Friesian dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 87:265-269. doi:10.1016/j.livprodsci.2003.07.014.
- Buxadé, C. 1996. *Zootecnia bases de producción animal*. Tomo VIII. Producción ovina. 1.<sup>a</sup> ed. (Mundi Prensa, editor.).
- Byatt, J. C., W. C. Warren, P. J. Eppard, N. R. Staten, G. G. Krivi, y R. J. Collier. 1992. Ruminant placental lactogens: structure and biology. *J. Anim. Sci.* 70:2911-2923. doi:10.2527/1992.7092911x.
- Caja, G., y M. de Rancourt. 2002. Situation actuelle et perspectives de la production des ovins laitiers en Espagne. En: Dubeuf J.-P, editor. *L'Observatoire des Systèmes de Production Ovine et Caprine en Méditerranée: Chiffres clés et indicateurs de fonctionnement et d'évolution*. Vol. 39. Zaragoza (Spain) CIHEAM, Zaragoza : CIHEAM. p. 57-66.
- Caja, G., y X. Such. 1991. Situación de la producción de leche de oveja en España. Principales sistemas de producción. *OVIS*. 14:11-27.
- Caldeira, R. M., A. T. Belo, C. C. Santos, M. I. Vazques, y A. V Portugal. 2007. The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Rumin. Res.* 68:233-241. doi:10.1016/j.smallrumres.2005.08.027.
- Camero Muñoz, P. 1999. *Cuaderno de la explotación de ovino*. 2.<sup>a</sup> ed. (Caja Duero, editor.). Salamanca.
- Cameron, J., B. Malpaux, y F. W. Castonguay. 2010. Accelerated lambing achieved by a photoperiod regimen consisting of alternating 4-month sequences of long and short days applied year-round<sup>1</sup>. *J. Anim. Sci.* 88:3280-3290. doi:10.2527/jas.2010-2911.

- Canfield, R. W., C. J. Sniffen, y W. R. Butler. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73:2342-2349. doi:10.3168/jds.S0022-0302(90)78916-3.
- Cannas, A., A. Nudda, y G. Pulina. 2002. Nutritional strategies to improve lactation persistency in dairy ewes. En: 8. Annual Great Lakes dairy sheep symposium: proceedings. Ithaca, New York, USA. p. 17-59.
- Castel, J. M., Y. Mena, F. A. Ruiz, J. Camúñez-Ruiz, y M. Sánchez-Rodríguez. 2011. Changes occurring in dairy goat production systems in less favoured areas of Spain. *Small Rumin. Res.* 96:83-92. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.01.002.
- Caton, J. S., y B. W. Hess. 2010. Maternal plane of nutrition: Impacts on fetal outcomes and postnatal offspring responses. En: B. W. Hess, T. DelCurto, J. G. P. J.G.P. Bowman, y R. C. Waterman, editores. 4th Proceedings, Grazing Livestock Nutrition Conference. Colorado. p. 104-122.
- Celi, P., A. Di Trana, y S. Claps. 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Rumin. Res.* 79:129-136. doi:10.1016/j.smallrumres.2008.07.010.
- Charismiadou, M. A., J. A. Bizelis, y E. Rogdakis. 2000. Metabolic changes during the perinatal period in dairy sheep in relation to level of nutrition and breed. I. Late pregnancy. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 84:61-72. doi:10.1046/j.1439-0396.2000.00282.x.
- Chavatte-Palmer, P., M. A. Velazquez, H. Jammes, y V. Duranthon. 2018. Review: Epigenetics, developmental programming and nutrition in herbivores. *Animal*. 12:s363-s371. doi:10.1017/S1751731118001337.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, Y. Faulconnier, M. Bonnet, J. Rouel, y F. Bocquier. 2000. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 59:127-134. doi:10.1017/S002966510000015X.
- Chniter, M., M. Hammadi, T. Khorchani, M. Ben Sassi, M. Ben Hamouda, y R. Nowak. 2013. Aspects of neonatal physiology have an influence on lambs' early

growth and survival in prolific D'man sheep. *Small Rumin. Res.* 111:162-170. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.10.004.

Contreras, A., D. Sierra, A. Sánchez, J. C. Corrales, J. C. Marco, M. J. Paape, y C. Gonzalo. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Rumin. Res.* 68:145-153. doi:10.1016/j.smallrumres.2006.09.011.

Corner-Thomas, R., R. Hickson, S. Morris, P. Back, A. Ridler, K. Stafford, y P. Kenyon. 2015. Effects of body condition score and nutrition in lactation on twin-bearing ewe and lamb performance to weaning. *New Zeal. J. Agric. Res.* 58:156-169. doi:10.1080/00288233.2014.987401.

Corner, R. A., F. J. Mulvaney, S. T. Morris, D. M. West, P. C. H. Morel, y P. R. Kenyon. 2013. A comparison of the reproductive performance of ewe lambs and mature ewes. *Small Rumin. Res.* 114:126-133. doi:10.1016/j.smallrumres.2013.05.018.

Cranston, L. M., P. R. Kenyon, R. A. Corner-Thomas, y S. T. Morris. 2017. The potential interaction between ewe body condition score and nutrition during very late pregnancy and lactation on the performance of twin-bearing ewes and their lambs. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 30:1270-1277. doi:10.5713/ajas.16.0641.

Cripps, R. L., L. R. Green, J. Thompson, M. S. Martin-Gronert, M. Monk, I. M. Sheldon, M. A. Hanson, C. N. Hales, y S. E. Ozanne. 2008. The effect of maternal body condition score before and during pregnancy on the glucose tolerance of adult sheep offspring. *Reprod. Sci.* 15:448-456. doi:10.1177/1933719107312161.

Curtis, S. E. 1983. Environmental management in animal agriculture. (Ames, editor.). Iowa State University Press.

Davis, A. J., I. R. Fleet, J. A. Goode, M. H. Hamon, F. M. Walker, y M. Peaker. 1979. Changes in mammary function at the onset of lactation in the goat: correlation with hormonal changes. *J. Physiol.* 288:33-44.

- Díaz, J. R., C. Peris, M. Rodríguez, M. P. Molina, y N. Fernández. 2004. Effect of milking pipeline height on machine milking efficiency and milk quality in sheep. *J. Dairy Sci.* 87:1675-1683. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73320-2.
- Doepel, L., H. Lapierre, y J. J. Kennelly. 2002. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 85:2315-2334. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74312-9.
- Dohoo, I. R., y S. W. Martin. 1984. Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. *Can. J. Comp. Med.* 48:1-5.
- Drackley, J. K., T. R. Overton, y G. N. Douglas. 2001. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84:E100-E112. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)70204-4.
- Duffield, J. A., T. Vuocolo, R. Tellam, J. R. McFarlane, K. G. Kauter, B. S. Muhlhausler, y I. C. McMillen. 2009. Intrauterine growth restriction and the sex specific programming of leptin and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) mRNA expression in visceral fat in the lamb. *Pediatr. Res.* 66:59-65. doi:10.1203/PDR.0b013e3181a7c121.
- Dziuk, P. J. 1992. Embryonic development and fetal growth. *Anim. Reprod. Sci.* 28:299-308. doi:10.1016/0378-4320(92)90116-U.
- Eastham, N. T., A. Coates, P. Cripps, H. Richardson, R. Smith, y G. Oikonomou. 2018. Associations between age at first calving and subsequent lactation performance in UK Holstein and Holstein-Friesian dairy cows. A. Yildirim, editor. *PLoS One*. 13:e0197764. doi:10.1371/journal.pone.0197764.
- El-Saied, U. M., L. F. de la Fuente, y F. San Primitivo. 2006. Lifetime traits comparison between annual and accelerated lambing systems for dairy ewes. *Livest. Sci.* 101:180-190. doi:10.1016/j.livsci.2005.11.003.
- Elvira, L, F. Hernandez, P. Cuesta, S. Cano, J.-V. Gonzalez-Martin, y S. Astiz. 2013a. Accurate mathematical models to describe the lactation curve of Lacaune

dairy sheep under intensive management. *animal*. 7:1044-1052. doi:10.1017/S175173111200239X.

Elvira, L, F. Hernandez, P. Cuesta, S. Cano, J.-V. Gonzalez-Martin, y S. Astiz. 2013b. Factors affecting the lactation curves of intensively managed sheep based on a clustering approach. *J. Dairy Res.* 80:439-447. doi:10.1017/S0022029913000381.

Elvira, P. L. 2015. Características productivas de la raza ovina lechera lacauene bajo un sistema de producción intensivo en España. Factores que afectan dichas características. Universidad Complutense de Madrid.

Emery, R. S., J. S. Liesman, y T. H. Herdt. 1992. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122:832-837. doi:10.1093/jn/122.suppl\_3.832.

Erdman, R. A., y M. Varner. 1995. Fixed yield responses to increased milking frequency. *J. Dairy Sci.* 78:1199-1203. doi:10.3168/jds.S0022-0302(95)76738-8.

European Environmental Agency. 2018. The circular economy and the bioeconomy partners in sustainability.

Eurostat. 2013. Farm structure survey 2013. *Farm Struct. Surv.* 2013.

Eurostat. 2015. Annual production and utilisation of milk on the farm.

Eyal, E., A. Lawi, Y. Folman, y M. Morag. 1978. Lamb and milk production of a flock of dairy ewes under an accelerated breeding regime. *J. Agric. Sci.* 91:69-79. doi:10.1017/S002185960005663X.

Faichney, G. J., P. J. Barker, B. P. Setchell, y D. B. Lindsay. 1981. The utilization of lactic acid by sheep in late pregnancy. *Q. J. Exp. Physiol.* 66:195-201.

FAOSTAT. 2019. Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura. Ganadería.

FEAGAS. 2019. Catálogo oficial de razas de ganado ovino de España. Fed. Española Asoc. Ganado Ovino. Available from: <https://feagas.com/razas/ovino/>

FEGA. 2019. Sector lácteo declaración de leche. Fondo Español Garantía Agrar. O.A.

Finocchiaro, R., J. B. C. H. M. van Kaam, B. Portolano, y I. Misztal. 2005. Effect of heat stress on production of Mediterranean dairy sheep. *J. Dairy Sci.* 88:1855-1864. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72860-5.

Fleisch, A., H. Bollwein, M. Piechotta, y F. Janett. 2015. Reproductive performance of Lacaune dairy sheep exposed to artificial long days followed by natural photoperiod without and with additional progestagen treatment during the nonbreeding season. *Theriogenology*. 83:320-325. doi:10.1016/j.theriogenology.2014.06.031.

Fogarty, N. M., y J. G. Mulholland. 2013. Annual lambing performance of crossbred ewes in out-of-season and accelerated lamb production systems. *Anim. Prod. Sci.* 53:1093. doi:10.1071/AN12269.

Ford, S. P., B. W. Hess, M. M. Schwoppe, M. J. Nijland, J. S. Gilbert, K. A. Vonnahme, W. J. Means, H. Han, y P. W. Nathanielsz. 2007. Maternal undernutrition during early to mid-gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in male offspring<sup>1</sup>. *J. Anim. Sci.* 85:1285-1294. doi:10.2527/jas.2005-624.

Gardner, D. S., P. J. Buttery, Z. Daniel, y M. E. Symonds. 2007. Factors affecting birth weight in sheep: maternal environment. *Reproduction*. 133:297-307. doi:10.1530/REP-06-0042.

Geenty, K. G., y P. G. Davison. 1982. Influence of weaning age, milking frequency, and udder stimulation on dairy milk production and post-partum oestrus interval of Dorset ewes. *New Zeal. J. Exp. Agric.* 10:1-5. doi:10.1080/03015521.1982.10427833.

Gicquel, C., A. El-Osta, y Y. Le Bouc. 2008. Epigenetic regulation and fetal programming. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 22:1-16. doi:10.1016/j.beem.2007.07.009.

Gil, M. J., M. Sánchez, R. Santos, y E. De León. 2003. Resultados productivos del grupo ovino de leche COVAP. En: M. E. Sánchez, M. E. Díaz, F. L. Gallego, F. J. M. Díaz, F. P. García, A. R. de L. Vega, y I. S. Alfranca, editores. XXVIII Jornadas Científicas y VII Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Imprenta Diputación-Diputación Provincial de Badajoz, Badajoz-España. p. 98-101.

Gillespie, A. V, J. L. Ehrlich, y D. H. Grove-White. 2017. Effect of calf gender on milk yield and fatty acid content in holstein dairy cows. B. O. Williams, editor. PLoS One. 12:e0169503. doi:10.1371/journal.pone.0169503.

Gonzalez-Bulnes, A., y C. Ovilo. 2012. Genetic basis, nutritional challenges and adaptive responses in the prenatal origin of obesity and type-2 diabetes. Curr. Diabetes Rev. 8:144-154. doi:10.2174/157339912799424537.

González-García, E., A. Tesniere, S. Camous, F. Bocquier, F. Barillet, y P. Hassoun. 2015. The effects of parity, litter size, physiological state, and milking frequency on the metabolic profile of Lacaune dairy ewes. Domest. Anim. Endocrinol. 50:32-44. doi:10.1016/j.domaniend.2014.07.001.

González-Recio, O., E. Ugarte, y A. Bach. 2012. Trans-generational effect of maternal lactation during pregnancy: A Holstein cow model. X. Tian, editor. PLoS One. 7:e51816. doi:10.1371/journal.pone.0051816.

Goodman, E., B. R. Hinden, y S. Khandelwal. 2000. Accuracy of teen and parental reports of obesity and body mass index. Pediatrics. 106:52-58. doi:10.1542/peds.106.1.52.

Gootwine, E. 2011. Mini review: breeding Awassi and Assaf sheep for diverse management conditions. Trop. Anim. Health Prod. 43:1289-1296. doi:10.1007/s11250-011-9852-y.

Gootwine, E., y G. E. Pollott. 2000. Factors affecting milk production in improved Awassi dairy ewes. Anim. Sci. 71:607-615. doi:10.1017/S1357729800055387.

Gootwine, E., y A. Rozov. 2006. Seasonal effects on birth weight of lambs born

to prolific ewes maintained under intensive management. *Livest. Sci.* 105:277-283. doi:10.1016/j.livsci.2006.06.018.

Gootwine, E., T. E. Spencer, y F. W. Bazer. 2007. Litter-size-dependent intrauterine growth restriction in sheep. *Animal.* 1:547-564. doi:10.1017/S1751731107691897.

Gowane, G. R., Y. P. Gadekar, V. Prakash, V. Kadam, A. Chopra, y L. L. L. Prince. 2017. Climate change impact on sheep production: growth, milk, wool, and meat. En: V. Sejian, R. Bhatta, J. Gaughan, P. K. Malik, S. M. . Naqvi, y R. Lal, editores. *Sheep Production Adapting to Climate Change*. 1.<sup>a</sup> ed. Springer Singapore, Singapore. p. 31-69.

Græsbøll, K., C. Kirkeby, S. S. Nielsen, y L. E. Christiansen. 2015. Danish holsteins favor bull offspring: biased milk production as a function of fetal sex, and calving difficulty. B. O. Williams, editor. *PLoS One*. 10:e0124051. doi:10.1371/journal.pone.0124051.

Greenwood, P., y A. Bell. 2003. Consequences of intra-uterine growth retardation for postnatal growth, metabolism and pathophysiology. *Biosci. Proc.* 61:195-206.

Greenwood, P. L., A. S. Hunt, J. W. Hermanson, y A. W. Bell. 1998. Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: I. Body growth and composition, and some aspects of energetic efficiency. *J. Anim. Sci.* 76:2354-2367. doi:/2000.78150x.

Habeeb, A. A., I. F. M. Marai, T. H. Kamal, y Owen J B. 1997. Genetic improvement of livestock for heat adpatation in hot climates. En: *Proceeding of international conference on animal, poultry and rabbit production and health*. Cairo, Egypt. p. 11-16.

Hales, C. N., y D. J. Barker. 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br. Med. Bull.* 60:5-20. doi:10.1093/bmb/60.1.5.

Harmeyer, J., y C. Schlumbohm. 2006. Pregnancy impairs ketone body disposal



in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res. Vet. Sci.* 81:254-264. doi:10.1016/j.rvsc.2005.10.010.

Hayden, T. J., C. R. Thomas, y I. A. Forsyth. 1979. Effect of number of young born (litter size) on milk yield of goats: role for placental lactogen. *J. Dairy Sci.* 62:53-57. doi:10.3168/jds.S0022-0302(79)83201-4.

Hernández Díaz, F. 2015. Influencia del manejo reproductivo sobre los índices productivos de una explotación intensiva de ovino lechero de raza Lacaune de España. Bases para la mejora de la productividad. Universidad Complutense de Madrid.

Hernandez, F., L. Elvira, J.-V. Gonzalez-Martin, y S. Astiz. 2012. Influence of dry period length on reproductive performance and productivity of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *J. Dairy Res.* 79:352-360. doi:10.1017/S0022029912000337.

Hernández, F., L. Elvira, J. V. Gonzalez-Martin, A. Gonzalez-Bulnes, y S. Astiz. 2011. Influence of age at first lambing on reproductive and productive performance of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *J. Dairy Res.* 78:160-167. doi:10.1017/S0022029911000033.

Hess, M. K., A. S. Hess, y D. J. Garrick. 2016. The effect of calf gender on milk production in seasonal calving cows and its impact on genetic evaluations. E. Z. Cameron, editor. *PLoS One*. 11:e0151236. doi:10.1371/journal.pone.0151236.

Hinde, K., A. J. Carpenter, J. S. Clay, y B. J. Bradford. 2014. Holsteins favor heifers, not bulls: biased milk production programmed during pregnancy as a function of fetal sex. E. Z. Cameron, editor. *PLoS One*. 9:e86169. doi:10.1371/journal.pone.0086169.

Hogue, D. E. 1987. Frequent lambing systems. En: I. F. M. Marai y J. B. Owen, editores. *New Techniques in Sheep Production*. Elsevier. p. 57-63.

Holmøy, I. H., C. Kielland, S. Marie Stubbsjøen, L. Hektoen, y S. Waage. 2012. Housing conditions and management practices associated with neonatal lamb

mortality in sheep flocks in Norway. *Prev. Vet. Med.* 107:231-241. doi:10.1016/j.prevetmed.2012.06.007.

Holtenius, P., y K. Holtenius. 1996. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: A review. *J. Vet. Med. Ser. A.* 43:579-587. doi:10.1111/j.1439-0442.1996.tb00491.x.

Hu, G., S. N. McCutcheon, W. J. Parker, y P. A. Walsh. 1990. Blood metabolite levels in late pregnant ewes as indicators of their nutritional status. *New Zeal. J. Agric. Res.* 33:63-68. doi:10.1080/00288233.1990.10430661.

InfoCarne. 2011. Raza Lacaune. Minist. Medio Ambient. y Medio Rural y Mar.

Iniguez, L. C., R. L. Quaas, y L. D. Van Vleck. 1986. Lambing performance of Morlam and Dorset Ewes under accelerated lambing systems. *J. Anim. Sci.* 63:1769-1778. doi:10.2527/jas1986.6361769x.

Institut De L'Elevage. 2016. Milk recording results - sheep France - year 2016. 1-22.

Johnsson, I. D., I. C. Hart, A. D. Simmonds, y S. V Morant. 1985. Pre-pubertal mammogenesis in the sheep 2. The effects of level of nutrition on the plasma concentrations of growth hormone, insulin and prolactin at various ages in female lambs and their relationship with mammary development. *Anim. Sci.* 41:333-340. doi:10.1017/S0003356100036382.

Johnston, L. B., A. J. L. Clark, y M. O. Savage. 2002. Genetic factors contributing to birth weight. N. Mann, editor. *Arch. Dis. Child. - Fetal Neonatal Ed.* 86:2F - a - 3. doi:10.1136/fn.86.1.F2-a.

Joy, M., R. Ripoll-Bosch, A. Sanz, F. Molino, I. Blasco, y J. Álvarez-Rodríguez. 2014. Effects of concentrate supplementation on forage intake, metabolic profile and milk fatty acid composition of unselected ewes raising lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 187:19-29. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.09.014.

Juengel, J. L., G. H. Davis, R. Wheeler, K. G. Dodds, y P. D. Johnstone. 2018.

Factors affecting differences between birth weight of littermates (BWTD) and the effects of BWTD on lamb performance. *Anim. Reprod. Sci.* 191:34-43. doi:10.1016/j.anireprosci.2018.02.002.

Kamal, M. M., M. Van Eetvelde, H. Bogaert, M. Hostens, L. Vandaele, M. Shamsuddin, y G. Opsomer. 2015. Environmental factors and dam characteristics associated with insulin sensitivity and insulin secretion in newborn Holstein calves. *Animal*. 9:1490-1499. doi:10.1017/S1751731115000701.

Kamal, M. M., M. Van Eetvelde, E. Depreester, M. Hostens, L. Vandaele, y G. Opsomer. 2014. Age at calving in heifers and level of milk production during gestation in cows are associated with the birth size of Holstein calves. *J. Dairy Sci.* 97:5448-5458. doi:10.3168/jds.2014-7898.

Kaneko, J. J. 1997. Carbohydrate metabolism and its diseases. En: J. J. Kaneko, J. W. Harvey, y M. L. Bruss, editores. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Fifth Edit. Elsevier, San Diego. p. 45-81.

Karagiannis, I., N. Panousis, E. Kiossis, I. Tsakmakidis, S. Lafi, G. Arsenos, C. Boscós, y C. Brozos. 2014. Associations of pre-lambing body condition score and serum  $\beta$ -hydroxybutyric acid and non-esterified fatty acids concentrations with periparturient health of Chios dairy ewes. *Small Rumin. Res.* 120:164-173. doi:10.1016/j.smallrumres.2014.05.001.

Karapehlivan, M., E. Atakisi, O. Atakisi, R. Yucayurt, y S. M. Pancarci. 2007. Blood biochemical parameters during the lactation and dry period in Tuj ewes. *Small Rumin. Res.* 73:267-271. doi:10.1016/j.smallrumres.2006.12.006.

Katoh, N. 2002. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* 64:293-307. doi:10.1292/jvms.64.293.

Kenyon, P., P. Morel, y S. Morris. 2004. Effect of liveweight and condition score of ewes at mating, and shearing mid-pregnancy, on birthweights and growth rates of twin lambs to weaning. *N. Z. Vet. J.* 52:145-149.

doi:10.1080/00480169.2004.36419.

Kenyon, P. R., y H. T. Blair. 2014. Foetal programming in sheep-Effects on production. *Small Rumin. Res.* 118:16-30. doi:10.1016/j.smallrumres.2013.12.021.

Kenyon, P. R., K. J. Stafford, C. M. C. Jenkinson, S. T. Morris, y D. M. West. 2007. The body composition and metabolic status of twin- and triplet-bearing ewes and their fetuses in late pregnancy. *Livest. Sci.* 107:103-112. doi:10.1016/j.livsci.2006.09.006.

Klei, L. R., J. M. Lynch, D. M. Barbano, P. A. Oltenacu, A. J. Lednor, y D. K. Bandler. 1997. Influence of milking three times a day on milk quality. *J. Dairy Sci.* 80:427-436. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)75954-X.

Knight, C. H., y C. J. Wilde. 1988. Milk production in concurrently pregnant and lactating goats mated out of season. *J. Dairy Res.* 55:487-493. doi:10.1017/S0022029900033252.

Knight, T. W., D. S. Atkinson, N. A. Haack, C. R. Palmer, y K. H. Rowland. 1993. Effects of suckling regime on lamb growth rates and milk yields of Dorset ewes. *New Zeal. J. Agric. Res.* 36:215-222. doi:10.1080/00288233.1993.10417756.

Kumar, V. 2017. Genetic and breeding aspects of lactation. En: *Trends and Advances in Veterinary Genetics*. InTech.

De La Fuente, L. F., D. Gabiña, N. Carolino, y E. Ugarte. 2006. The awassi and assaf breeds in Spain and Portugal. En: Ynze van der Honing, editor. *European Association for Animal Production (EAAP) 57 Annual Meeting*. Vol. 12. Antalya, Turkey. p. 79.

Labussière, J. 1988. Review of physiological and anatomical factors influencing the milking ability of ewes and the organization of milking. *Livest. Prod. Sci.* 18:253-274. doi:10.1016/0301-6226(88)90035-8.

Labussière, J., J. F. Combaud, P. Petrequin, y P. Chesne. 1974. Influence de la

fréquence des traites et des tétées sur la production laitière des brebis préalpes du sud. *Ann. Zootech. INRA/EDP Sci.* 23:445-457.

Legarra, A., y E. Ugarte. 2005. Genetic parameters of udder traits, somatic cell score, and milk yield in Latxa sheep. *J. Dairy Sci.* 88:2238-2245. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72899-X.

Lewis, R. M., D. R. Notter, D. E. Hogue, y B. H. Magee. 1996. Ewe fertility in the STAR accelerated lambing system. *J. Anim. Sci.* 74:1511. doi:10.2527/1996.7471511x.

van der Linden, D. S., P. R. Kenyon, H. T. Blair, N. Lopez-Villalobos, C. M. C. Jenkinson, S. W. Peterson, y D. D. S. Mackenzie. 2009. Effects of ewe size and nutrition on fetal mammary gland development and lactational performance of offspring at their first lactation<sup>1</sup>. *J. Anim. Sci.* 87:3944-3954. doi:10.2527/jas.2009-2125.

Loureiro, M. F. P., S. J. Pain, P. R. Kenyon, S. W. Peterson, y H. T. Blair. 2012. Single female offspring born to primiparous ewe-lambs are lighter than those born to adult multiparous ewes but their reproduction and milk production are unaffected. *Anim. Prod. Sci.* 52:552. doi:10.1071/AN11211.

Luther, J., R. Aitken, J. Milne, M. Matsuzaki, L. Reynolds, D. Redmer, y J. Wallace. 2007. Maternal and fetal growth, body composition, endocrinology, and metabolic status in undernourished adolescent sheep<sup>1</sup>. *Biol. Reprod.* 77:343-350. doi:10.1095/biolreprod.107.061440.

MAGRAMA. 2018a. Situación sector ovino y caprino.

MAGRAMA. 2018b. Encuesta de efectivos de ganado ovino y caprino Noviembre 2016.

MAGRAMA. 2019. Catálogo oficial de razas. Razas autóctonas.

Manalu, W., M. Y. Sumaryadi, y N. Kusumorini. 1997. Effect of fetal number on the concentrations of circulating maternal serum progesterone and estradiol of

does during late pregnancy. *Small Rumin. Res.* 23:117-124. doi:10.1016/S0921-4488(96)00921-2.

Mantecón, A. R. 2009. Estrategias para conseguir una producción de leche más rentable. *Liga Ordeño* 2009. 165:12-17.

Mantecón, A. R., P. Díez, B. Villadangos, Y. Martínez, y P. Lavín. 2009. Dairy sheep production systems in central north Spain: Effect of flock size. *Options Méditerranéennes*. 91:75-77.

Mantecón, A. R., J. L. Ramella, S. López, J. S. González, P. Lavín, y G. Hervás. 2007. Frecuencia de ordeño en ovino. *Mundo Ganad.* 195:54-57.

Marai, I. F. M., A. A. El-Darawany, E. I. Abou Fandoud, y M. A. M. Abdel Hafez. 2009. Egyptian Suffolk ewe traits bred in 3 lambings/2 years system as affected by treatment with selenium in winter, progesterone+BMSG in summer and vitamin A in autumn, under the sub tropical environment of Egypt. *J. Cell Anim. Biol.* 3:152-158.

Marai, I. F. M., A. A. El-Darawany, A. Fadiel, y M. A. M. Abdel-Hafez. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Rumin. Res.* 71:1-12. doi:10.1016/j.smallrumres.2006.10.003.

Marie, C., F. Barillet, X. Such, F. Bocquier, y G. Caja. 2002. Efficacité alimentaire selon le potentiel laitier des brebis. En: F. Barillet y F. Bocquier, editores. *Nutrition, alimentation et élevage des brebis laitières. Maîtrise de facteurs de production pour réduire les coûts et améliorer la qualité des produits*. Vol. 42. Zaragoza : CIHEAM. p. 57-71.

Marnet, P. G., y B. C. McKusick. 2001. Regulation of milk ejection and milkability in small ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 70:125-133. doi:10.1016/S0301-6226(01)00205-6.

Martín, S., A. Ruiz Mantecón, y M. P. Lavin. 2009. Manejo Reproductivo y gestión técnico económica. *Mundo Ganad.* 56-60.

- Martínez, S., I. Franco, y J. Carballo. 2011. Spanish goat and sheep milk cheeses. *Small Rumin. Res.* 101:41-54. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.09.024.
- McFadden, T. B., T. E. Daniel, y R. M. Akers. 1990. Effects of plane of nutrition, growth hormone and unsaturated fat on mammary growth in prepubertal lambs. *J. Anim. Sci.* 68:3171. doi:10.2527/1990.68103171x.
- McKusick, B. C., D. L. Thomas, y Y. M. Berger. 2003. Effect of omission of machine stripping on milk production and parlor throughput in East Friesian dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 86:680-687. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73647-9.
- Mcmillen, I. C., y J. S. Robinson. 2005. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol. Rev.* 85:571-633. doi:10.1152/physrev.00053.2003.
- Meikle, A., M. Kulcsar, Y. Chilliard, H. Febel, C. Delavaud, D. Cavestany, y P. Chilibroste. 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction.* 127:727-737. doi:10.1530/rep.1.00080.
- Menegatos, J., C. Goulas, y D. Kalogiannis. 2006. The productivity, ovarian and thyroid activity of ewes in an accelerated lambing system in Greece. *Small Rumin. Res.* 65:209-216. doi:10.1016/j.smallrumres.2005.06.020.
- Meuret, M. 2006. Es pratiques pastorales entre temps court de l'alimentation des troupeaux et temps long des ressources et des milieux. *Académie d'Agriculture Fr.* 1-13.
- Mikolayunas-Sandrock, C., L. E. Armentano, D. L. Thomas, y Y. M. Berger. 2009. Effect of protein degradability on milk production of dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 92:4507-4513. doi:10.3168/jds.2008-1983.
- Milán, M. J., G. Caja, R. González-González, A. M. Fernández-Pérez, y X. Such. 2011. Structure and performance of awassi and assaf dairy sheep farms in northwestern Spain. *J. Dairy Sci.* 94:771-784. doi:10.3168/jds.2010-3520.

- Miller, D. R., D. Blache, R. B. Jackson, E. F. Downie, y J. R. Roche. 2010. Metabolic maturity at birth and neonate lamb survival: Association among maternal factors, litter size, lamb birth weight, and plasma metabolic and endocrine factors on survival and behavior<sup>1</sup>. *J. Anim. Sci.* 88:581-592. doi:10.2527/jas.2009-2170.
- Moallem, U., A. Rozov, E. Gootwine, y H. Honig. 2012. Plasma concentrations of key metabolites and insulin in late-pregnant ewes carrying 1 to 5 fetuses. *J. Anim. Sci.* 90:318-324. doi:10.2527/jas.2011-3905.
- Mohammadi, V., E. Anassori, y S. Jafari. 2016. Measure of energy related biochemical metabolites changes during peri-partum period in Makouei breed sheep. *Vet. Res. Forum.* 7:35-9.
- Mollard, A., V. Chatellier, J. M. Codron, P. Dupraz, y F. Jacquet. 2003. L'agriculture contre l'environnement? diagnostic, solutions et perspectives économiques. *Ann. des mines.* 37-59.
- Morag, M. 1968. The effect of varying the daily milking frequency on the milk yield of a ewe and evidence on the nature of the inhibition of milk ejection by half udder milking. *Ann. Zootech. INRA/EDP Sci.* 17:351-369. doi:hal-00886942.
- Morrison, J. L. 2008. Sheep models of intrauterine growth restriction: Fetal adaptations and consequences. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 35:730-743. doi:10.1111/j.1440-1681.2008.04975.x.
- Morrissey, A. D., A. W. N. Cameron, y A. J. Tilbrook. 2008. Pregnancy does not affect commercial milk yield in dairy ewes managed to lamb at 9-month intervals. *Small Rumin. Res.* 76:211-214. doi:10.1016/j.smallrumres.2007.12.021.
- Mount, L. E. 1979. Adaptation to thermal environment. En: *Man and his productive animals*. Baltimore : University Park Press, London.
- Nash, M. L., L. L. Hungerford, T. G. Nash, y G. M. Zinn. 1996. Risk factors for perinatal and postnatal mortality in lambs. *Vet. Rec.* 139:64-7.



- Neel, J. V. 1962. Diabetes mellitus: a «thrifty» genotype rendered detrimental by «progress»? Am. J. Hum. Genet. 14:353-62.
- Negrão, J. ., P. . Marnet, y J. Labussière. 2001. Effect of milking frequency on oxytocin release and milk production in dairy ewes. Small Rumin. Res. 39:181-187. doi:10.1016/S0921-4488(00)00186-3.
- De Nicolo, G. 2007. Accelerated and out-of-season lamb production in New Zealand. Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- De Nicolo, G., S. T. Morris, P. R. Kenyon, P. D. Kemp, y P. C. H. Morel. 2008. Ewe reproduction and lambing performance in a five period mating system. New Zeal. J. Agric. Res. 51:397-407. doi:10.1080/00288230809510470.
- Notter, D. R., R. C. Borg, y L. A. Kuehn. 2005. Adjustment of lamb birth and weaning weights for continuous effects of ewe age. Anim. Sci. 80:241-248. doi:10.1079/ASC40760241.
- Notter, D. R., y J. S. Copenhaver. 1980. Performance of Finnish Landrace crossbred ewes under accelerated lambing. I. fertility, prolificacy and ewe productivity. J. Anim. Sci. 51:1033-1042. doi:10.2527/jas1980.5151033x.
- O'Driscoll, K., D. Gleeson, B. O'Brien, y L. Boyle. 2011. Does omission of a regular milking event affect cow comfort? Livest. Sci. 138:132-143. doi:10.1016/j.livsci.2010.12.013.
- Olechnowicz, J. 2012. The course of machine milking in small ruminants. En: Milk Production - An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health. InTech. p. 185-2016.
- Opsomer, G., M. Van Eetvelde, M. Kamal, y A. Van Soom. 2017. Epidemiological evidence for metabolic programming in dairy cattle. Reprod. Fertil. Dev. 29:52. doi:10.1071/RD16410.
- Ospina, P. A., J. A. McArt, T. R. Overton, T. Stokol, y D. V Nydam. 2013. Using nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations during the

transition period for herd-level monitoring of increased risk of disease and decreased reproductive and milking performance. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 29:387-412. doi:10.1016/j.cvfa.2013.04.003.

Ospina, P. A., D. V. Nydam, T. Stokol, y T. R. Overton. 2010. Associations of elevated nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *J. Dairy Sci.* 93:1596-1603. doi:10.3168/jds.2009-2852.

Overton, T. R., y M. R. Waldron. 2004. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87:E105-E119. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)70066-1.

Ovigén. 2018. Raza ovina assaf España. Disponible en: <http://ovigen.es/raza-ovina-assaf-espana/>

Palacín, I., J.-A. Abecia, F. Forcada, A. Casao, J.-Á. Cebrián, T. Muiño, C. Palacios, y J. M. Pontes. 2008. Effects of exogenous melatonin treatment on out-of-season ram fertility. *Ital. J. Anim. Sci.* 7:199-206. doi:10.4081/ijas.2008.199.

Parraguez, V. H., M. Atlagich, R. Díaz, M. E. Bruzzzone, C. Behn, y L. A. Raggi. 2005. Effect of hypobaric hypoxia on lamb intrauterine growth: comparison between high- and low-altitude native ewes. *Reprod. Fertil. Dev.* 17:497. doi:10.1071/RD04060.

Patel, M. S., y M. Srinivasan. 2011. Metabolic programming in the immediate postnatal life. *Ann. Nutr. Metab.* 58:18-28. doi:10.1159/000328040.

Paulina, G, y R Bencini. 2004. Dairy sheep nutrition. 1.<sup>a</sup> ed. (Giuseppe Paulina y Roberta Bencini, editores.). London.

Peana, I., C. Dimauro, M. Carta, M. Gaspa, G. Fois, y A. Cannas. 2007a. Cold markedly influences milk yield of Sardinian dairy sheep farms. *Ital. J. Anim. Sci.* 6:580-580. doi:10.4081/ijas.2007.1s.535ijas.2007.1s.580.

- Peana, I., G. Fois, y A. Cannas. 2007b. Effects of heat stress and diet on milk production and feed and energy intake of Sarda ewes. *Ital. J. Anim. Sci.* 6:577-579. doi:10.4081/ijas.2007.1s.577.
- Peñagaricano, F., X. Wang, G. J. M. Rosa, A. E. Radunz, y H. Khatib. 2014. Maternal nutrition induces gene expression changes in fetal muscle and adipose tissues in sheep. *BMC Genomics*. 15:1034. doi:10.1186/1471-2164-15-1034.
- Peris, C., J. R. Díaz, C. Segura, A. Martí, y N. Fernández. 2003. Influence of pulsation rate on udder health and teat thickness changes in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 86:530-537. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73631-5.
- Pesantez-Pacheco, J., L. Torres-Rovira, F. Hernandez, M. Sanz-Fernandez, N. Villalobos, A. Heras-Molina, C. Garcia-Contreras, M. Vazquez-Gomez, P. Martinez-Ros, J. Gonzalez-Martin, A. Gonzalez-Bulnes, y S. Astiz. 2018. Efficiency and demographics of a high-yield dairy ewe farm with two managing systems involving five or 10 lambings per year. *Animal*. 12:2181-2190. doi:10.1017/S175173111700369X.
- Petrovic, M., C. Mekic, D. Ruzic, y M. Zujovic. 2005. Genetic principles relating to improvement of milk yield in sheep and goats. *Biotechnol. Anim. Husb.* 21:73-78. doi:10.2298/BAH0506073P.
- Pettigrew, E. J., R. E. Hickson, S. T. Morris, N. Lopez-Villalobos, S. J. Pain, P. R. Kenyon, y H. T. Blair. 2019. The effects of birth rank (single or twin) and dam age on the lifetime productive performance of female dual purpose sheep (*Ovis aries*) offspring in New Zealand. A. Gonzalez-Bulnes, editor. *PLoS One*. 14:e0214021. doi:10.1371/journal.pone.0214021.
- Piccione, G., D. Alberghina, S. Marafioti, C. Giannetto, S. Casella, A. Assenza, y F. Fazio. 2012. Electrophoretic serum protein fraction profile during the different physiological phases in comisana ewes. *Reprod. Domest. Anim.* 47:591-595. doi:10.1111/j.1439-0531.2011.01925.x.
- Piccione, G., G. Caola, C. Giannetto, F. Grasso, S. Calanni Runzo, A. Zumbo, y

P. Pennisi. 2009. Selected biochemical serum parameters in ewes during pregnancy, post-parturition, lactation and dry period. *Anim. Sci. Pap. Reports.* 27:321-330.

Pinent, M., H. Hackl, T. R. Burkard, A. Prokesch, C. Papak, M. Scheideler, G. Hämmerle, R. Zechner, Z. Trajanoski, y J. G. Strauss. 2008. Differential transcriptional modulation of biological processes in adipocyte triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase-deficient mice. *Genomics.* 92:26-32. doi:10.1016/j.ygeno.2008.03.010.

Pollott, G. E., y E. Gootwine. 2004. Reproductive performance and milk production of assaf sheep in an intensive management system. *J. Dairy Sci.* 87:3690-3703. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73508-0.

Pollott, G., y R. T. Wilson. 2009. Sheep and goats for diverse products and profits. *FAO Diversif. Bookl.* 42 pp.

Poux, X., G. Beaufoy, R. Signal, y B. Romain. 2009. Les systèmes ovins et caprins de l' Union européenne: Implications pour l' environnement. *Options Méditerranéennes. Séries A. Mediterr. Semin.* 91:113-123.

Rae, M. ., C. . Kyle, D. . Miller, A. . Hammond, A. . Brooks, y S. . Rhind. 2002. The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 72:63-71. doi:10.1016/S0378-4320(02)00068-4.

Rahbar, R., R. Abdollahpour, y A. S. Sefidmazgi. 2016. Effect of calf birth weight on milk production of holstein dairy cattle in desert climate. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 4:65-70. doi:10.14269/2318-1265/jabb.v4n3p65-70.

Ramón, M., C. Díaz, M. D. Pérez-Guzman, y M. J. Carabaño. 2016. Effect of exposure to adverse climatic conditions on production in Manchega dairy sheep. *J. Dairy Sci.* 99:5764-5779. doi:10.3168/jds.2016-10909.

Ramos Nieves, J. M., G. Bernal Santos, A. Faciola, M. E. Van Ambrugh, y Y. R. Boisclair. 2010. Effects of birth weight and dietary caloric density on growth,

voluntary intake and body composition of newborn lambs. En: G. Crovetto Mateo, editor. Energy and Protein metabolism and nutrition. 3rd EAAP International Symposium on Energy and Protein Metabolism and Nutrition. Wageningen Academic, Parma. p. 215-216.

Raoofi, A., M. Jafarian, S. Safi, y M. Vatankhah. 2013. Fluctuations in energy-related metabolites during the peri-parturition period in Lori-Bakhtiari ewes. *Small Rumin. Res.* 109:64-68. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.06.012.

Rattray, P. V, W. N. Garrett, N. E. East, y N. Hinman. 1974. Growth, development and composition of the ovine conceptus and mammary gland during pregnancy. *J. Anim. Sci.* 38:613-626. doi:10.2527/jas1974.383613x.

Regli, J. G. 1999. Experiences with Lacaune dairy sheep in Switzerland experiences in Canada. En: Proceedings of the 5th. Great Lakes Dairy Sheep Symposium. Brattleboro-Vermont-USA. p. 51-54.

Rica. 2003. Agriculture and rural development. Farm Account. data Netw. Disponible en: [http://ec.europa.eu/agriculture/rica/database/database\\_en.cfm](http://ec.europa.eu/agriculture/rica/database/database_en.cfm)

Riedel, J. L., I. Casasús, y A. Bernués. 2007. Sheep farming intensification and utilization of natural resources in a Mediterranean pastoral agro-ecosystem. *Livest. Sci.* 111:153-163. doi:10.1016/j.livsci.2006.12.013.

Rivas Rangel, J. H. 2010. Nivel de competitividad del sistema productivo ovino lechero de la DOP "Queso Manchego". Propuestas de mejoras de viabilidad de las explotaciones. Universidad de Cordova.

Robinson, J. J., J. Rooke, y T. G. McEvoy. 2002. Nutrition for conception and pregnancy. En: M. Free y H. Dove, editores. *Sheep Nutrition*. CSIRO, Collingwood. p. 189-211.

Robinson, T. 1980. Programmed year-round sheep breeding. *Aust. J. Exp. Agric.* 20:667-673. doi:10.1071/EA9800667.

Roche, J. R., S. Meier, A. Heiser, M. D. Mitchell, C. G. Walker, M. A. Crookenden,

- M. V. Riboni, J. J. Loor, y J. K. Kay. 2015. Effects of precalving body condition score and prepartum feeding level on production, reproduction, and health parameters in pasture-based transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:7164-7182. doi:10.3168/jds.2014-9269.
- Rodríguez Ruiz, L. A. 2013. Análisis de la rentabilidad de las explotaciones de ovino de leche en Castilla y León. Universidad de León.
- Romero, C. G., y R. C. Morales. 2006. Las razas autóctonas en el contexto de la ganadería ecológica. *Ganad. Extensiva.* 32-39.
- Rossi, R. 2017. The sheep and goat sector in the EU main features, challenges and prospects. *EPRS Eur. Parliam. Res. Serv.* 1-8.
- Russel, A. J. F. 1984. Means of assessing the adequacy of nutrition of pregnant ewes. *Livest. Prod. Sci.* 11:429-436. doi:10.1016/0301-6226(84)90054-X.
- Russel, A. J. F., J. M. Doney, y R. G. Gunn. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72:451-454. doi:10.1017/S0021859600024874.
- Sahin, A., Z. Ulutas, A. Y. Adkinson, y R. W. Adkinson. 2012. Genetic and environmental parameters and trends for milk production of Holstein cattle in Turkey. *Ital. J. Anim. Sci.* 11:e44. doi:10.4081/ijas.2012.e44.
- Salama, A. A. K., G. Caja, X. Such, R. Casals, y E. Albanell. 2005. Effect of pregnancy and extended lactation on milk production in dairy goats milked once daily. *J. Dairy Sci.* 88:3894-3904. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)73075-7.
- Salama, A. A. K., X. Such, G. Caja, M. Rovai, R. Casals, E. Albanell, M. P. Marín, y A. Martí. 2003. Effects of once versus twice daily milking throughout lactation on milk yield and milk composition in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 86:1673-1680. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73753-9.
- Sanchez Rodriguez, M. 2011. Sector ovino lechero. Máster oficial de la Universidad de Cordova en zootecnia y gestión sostenible: ganadería ecológica

e integrada.

Sanson, D. W., T. R. West, W. R. Tatman, M. L. Riley, M. B. Judkins, y G. E. Moss. 1993. Relationship of body composition of mature ewes with condition score and body weight. *J. Anim. Sci.* 71:1112-1116. doi:10.2527/1993.7151112x.

Sawalha, R. M., J. Conington, S. Brotherstone, y B. Villanueva. 2007. Analyses of lamb survival of Scottish Blackface sheep. *Animal.* 1:151-157. doi:10.1017/S1751731107340056.

Schmitt, E., A. S. Maffi, R. F. S. Raimondo, M. E. Lima, D. A. C. Hoffmann, T. S. Farofa, P. Montagner, J. A. A. Rincón, F. A. B. Del Pino, y M. N. Corrêa. 2018. Energetic metabolic profile of ewes presenting low body condition score induced to subclinical hypocalcemia in early postpartum. *Austral J. Vet. Sci.* 50:15-20. doi:10.4067/S0719-81322018000100104.

Seal, C. J., y C. K. Reynolds. 1993. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutr. Res. Rev.* 6:185-208. doi:10.1079/NRR19930012.

Seidel, H., J. Novotny, y G. Kovac. 2006. Selected biochemical indices in sheep during pregnancy and after parturition. *Bull Vet Inst Pulawy.* 50:167-170.

Selvaggi, M., A. G. D'Alessandro, y C. Dario. 2017. Environmental and genetic factors affecting milk yield and quality in three Italian sheep breeds. *J. Dairy Res.* 84:27-31. doi:10.1017/S0022029916000765.

Sevi, A., G. Annicchiarico, M. Albenzio, L. Taibi, A. Muscio, y S. Dell'Aquila. 2001. Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune response and production of lactating ewes under high ambient temperature. *J. Dairy Sci.* 84:629-640. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74518-3.

Sevi, A., y M. Caroprese. 2012. Impact of heat stress on milk production, immunity and udder health in sheep: A critical review. *Small Rumin. Res.* 107:1-7. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.07.012.

- Simensen, E., C. Kielland, F. Hardeng, y K. E. Bøe. 2014. Associations between housing and management factors and reproductive performance in 327 Norwegian sheep flocks. *Acta Vet. Scand.* 56:26. doi:10.1186/1751-0147-56-26.
- SITRAN. 2019. Informe SITRAN 2019. Sist. Integr. Trazabilidad Anim. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/trazabilidad-animal/registro/default.aspx>
- Smith, M. C., y D. M. Sherman. 2009. *Goat Medicine*. 2.<sup>a</sup> ed. Wiley-Blackwell, Iowa-USA.
- Spencer, T. ., R. . Burghardt, G. . Johnson, y F. . Bazer. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:537-550. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.014.
- Strang, B. D., S. J. Bertics, R. R. Grummer, y L. E. Armentano. 1998. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81:728-739. doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)75629-2.
- Stup, R. E., J. Hyde, y L. A. Holden. 2006. Relationships between selected human resource management practices and dairy farm performance. *J. Dairy Sci.* 89:1116-1120. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72180-4.
- Such, X., G. Caja, y L. Pere. 1998. Comparison of milking ability between Manchega and Lacaune dairy ewes. En: In: 6th International Symposium on the Milking of Small Ruminants. Athens-Greece. p. 45-50.
- Swali, A., y D. C. Wathes. 2006. Influence of the dam and sire on size at birth and subsequent growth, milk production and fertility in dairy heifers. *Theriogenology*. 66:1173-1184. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.03.028.
- Swali, A., y D. C. Wathes. 2007. Influence of primiparity on size at birth, growth, the somatotrophic axis and fertility in dairy heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 102:122-136. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.10.012.



- Symonds, M. E., T. Stephenson, D. S. Gardner, y H. Budge. 2007. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. *Reprod. Fertil. Dev.* 19:53. doi:10.1071/RD06130.
- Thomas, D. L., Y. M. Berger, B. C. McKusick, y C. M. Mikolayunas. 2014. Dairy sheep production research at the University of Wisconsin-Madison, USA – a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 5:22. doi:10.1186/2049-1891-5-22.
- Thorn, S., P. Rozance, L. Brown, y W. Hay. 2011. The intrauterine growth restriction phenotype: Fetal adaptations and potential implications for later life insulin resistance and diabetes. *Semin. Reprod. Med.* 29:225-236. doi:10.1055/s-0031-1275516.
- Tucker, H. A. 1987. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: A review. *J. Dairy Sci.* 70:1958-1966. doi:10.3168/jds.S0022-0302(87)80238-2.
- UAGCYL. 2017. Centro autonómico de Control Lechero Oficial de Castilla y León. Disponible en: <http://www.uagcyl.es/>
- Ugarte, E., R. Ruiz, D. Gabiña, y I. Beltrán de Heredia. 2001. Impact of high-yielding foreign breeds on the Spanish dairy sheep industry. *Livest. Prod. Sci.* 71:3-10. doi:10.1016/S0301-6226(01)00235-4.
- UPRA. 2010. Les races lacaune. Francia. Available from: [http://fr.france-genetique-elevage.org/IMG/pdf/lacaunelait\\_plaquette\\_general\\_2010.pdf](http://fr.france-genetique-elevage.org/IMG/pdf/lacaunelait_plaquette_general_2010.pdf)
- Verbeek, E., M. H. Oliver, J. R. Waas, L. M. McLeay, D. Blache, y L. R. Matthews. 2012. Reduced cortisol and metabolic responses of thin ewes to an acute cold challenge in mid-pregnancy: Implications for animal physiology and welfare. N. Ashton, editor. *PLoS One*. 7:e37315. doi:10.1371/journal.pone.0037315.
- Vicario, V., F. Arrebola, B. Pardo, F. Borjas, y R. A. Martín. 2012. ¿Es viable la utilización del Sistema STAR para gestionar las parideras, en explotaciones de ovino de sistemas extensivos adehesados? *Ganadería*. 24-27.

- Walton, P., y H. A. Robertson. 1974. Reproductive performance of finnish landrace ewes mated twice yearly. *Can. J. Anim. Sci.* 54:35-40. doi:10.4141/cjas74-006.
- Wilson, S. J., J. C. McEwan, P. W. Sheard, y A. J. Harris. 1992. Early stages of myogenesis in a large mammal: Formation of successive generations of myotubes in sheep tibialis cranialis muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 13:534-550. doi:10.1007/BF01737996.
- Zarkawi, M. 2011. Response of fat-tailed Syrian Awassi ewes to accelerated lambing systems. *Trop. Anim. Health Prod.* 43:1311-1318. doi:10.1007/s11250-011-9861-x.
- Zobel, G., K. Leslie, D. M. Weary, y M. A. G. von Keyserlingk. 2015a. Ketonemia in dairy goats: Effect of dry period length and effect on lying behavior. *J. Dairy Sci.* 98:6128-6138. doi:10.3168/jds.2014-9136.
- Zobel, G., D. M. Weary, K. E. Leslie, y M. A. G. von Keyserlingk. 2015b. Invited review: Cessation of lactation: Effects on animal welfare. *J. Dairy Sci.* 98:8263-8277. doi:10.3168/jds.2015-9617.

## 8 ANEXOS

### 8.1 Anexo 1: Otras publicaciones y comunicaciones en congresos durante la Tesis Doctoral

#### Publicaciones indexadas

1. Patrón Collantes R, López Helguera I, **Pesántez Pacheco JL**, Sebastián F, Fernández M, Fargas O, Astiz S. 2017. Early postpartum administration of equine chorionic gonadotropin to dairy cows calved during the hot season: Effects on fertility after first artificial insemination. *Theriogenology*. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.01.019
2. Patrón R, López Helguera I, Sebastián F, **Pesántez Pacheco JL**, Pérez Villalobos N, González Martín JV, Fargas O, Astiz S. 2017. Influence of practitioner expertise during early pregnancy diagnosis on pregnancy loss rate: A controlled, blinded trial. *Reproduction in Domestic Animals*. DOI: 10.1111/rda.13033
3. Vázquez Gómez M, García Contreras C, Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, González Añover P, Gómez Fidalgo E, Sánchez Sánchez R, Óvilo C, Isabel B, Astiz S, González Bulnes A. 2017. Polyphenols and IUGR pregnancies: Maternal hydroxytyrosol supplementation improves prenatal and early-postnatal growth and metabolism of the offspring. *PLOS/ONE*. DOI:org/10.1371/journal.pone.0177593
4. Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, Hernández F, Elvira Partida L, Pérez Solana ML, González Martín JV, González Bulnes A, Astiz S. 2017. Identification of factors affecting colostrum quality of dairy Lacaune ewes assessed with the Brix refractometer. *Journal of Dairy Research*. DOI: 10.1017/S002202991700070X
5. Patrón R, López Helguera I, **Pesántez Pacheco JL**, Pérez Villalobos N, Heras J, González Martín JV, Fargas O, Astiz S. 2019. Resynchronization with the G6G protocol: a retrospective, observational study of second and later timed

artificial inseminations on commercial dairy farms. *Reproduction in Domestic Animals*. DOI: 10.1111/rda.13343.

6. González Añoover P, Torres Rovira L, García Contreras C, Vázquez Gómez M, **Pesántez Pacheco JL**, Sanz Fernández MV, Astiz S, González Bulnes A. 2018. Antioxidant homeostasis is disturbed in fetuses with leptin-resistant genotypes: A cross-sectional study. *International Journal of Reproductive Biomedicine*. PMID: PMC6163048

7. García Contreras C, Vázquez Gómez M, Barbero A, **Pesántez Pacheco JL**, Zinellu A, Berlinguer F, González Añoover P, González J, Encinas T, Torres Rovira L, Nuñez Y, Ballesteros J, Ayuso M, Astiz S, Isabel B, Óvilo C, González-Bulnes A. 2019. Polyphenols and IUGR Pregnancies: Effects of Maternal Hydroxytyrosol Supplementation on Placental Gene Expression and Fetal Antioxidant Status, DNA-Methylation and Phenotype. *Biomolecules*. DOI: 10.3390/biom9050166.

8. García Contreras C, Vázquez Gómez M, **Pesántez Pacheco JL**, Torres Rovira L, Heras Molina A, Encinas T, Astiz S, González Bulnes A. 2019. Maternal Metformin Treatment Improves Developmental and Metabolic Traits of IUGR Fetuses. *Biomolecules*. DOI: 10.3390/biom9050166.

#### Publicaciones no indexadas

1. Martínez Ros P, **Pesántez Pacheco JL**, Astiz S, González Bulnes A. 2017. Estrategias de control reproductivo en ganado ovino. *Revista en formato impreso TIERRAS OVINO*. Pag 44.

2. Astiz S, Fargas O, Sebastián F, Heras J, Patrón R, **Pesántez Pacheco JL**. Las explotaciones lecheras no tienen que asumir una mala eficiencia reproductiva. 2018. *Revista Frisona Española*.

<http://www.revistafrisona.com/Portals/0/articulos/n223/eficiencia%20reproductiva.pdf>

3. **Pesántez Pacheco JL**, García Contreras C, Vázquez Gómez M, Sanz Fernández MV, Heras Molina A, Astiz S, González Bulnes A. Programación prenatal y epigenética en pequeños rumiantes. 2018. Albeitar. Pag 30.

Comunicaciones en congresos nacionales e internacionales

(persona que presenta: ‡ Presentación oral; \* Poster)

1. **Pesántez Pacheco JL**‡, Torres Rovira L, Hernández F, González Martin JV, González Bulnes A, Astiz S. Comparación de dos sistemas de manejo reproductivo sobre la eficiencia reproductiva en ovejas Lacaune lecheras. 2017. AIDA. XVII Jornadas sobre Producción Animal. España.
2. **Pesántez Pacheco JL**\*, Torres Rovira JL, Hernández F, García Contreras C, Heras Molina A, Vázquez Gómez M, Sanz Fernández MV, González Martin JV, González Bulnes A, Astiz S. 2017. Influence of maternal metabolic status during mid and late pregnancy on the metabolic profile of the offspring in sheep. Final Meeting of SALAAM Cost. Alemania.
3. **Sanz Fernández MV**‡, Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, Vázquez Gómez M, Fermín Rodríguez ML, Astiz S, González Bulnes, A. 2017. Characterization of the Iberian pig as a model of obesity-induced changes in immune function. Final Meeting of SALAAM Cost. Alemania.
4. **Rodríguez R**‡, García Contreras C, Vázquez Gómez M, Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, Sanz Fernández MV, González J, Isabel B, Astiz S, Luis Lima S, González Bulnes A, Porrini E. 2017. The iberian pig fed with high fat diet: A model of obesity-related glomerulopathy and diabetic changes. Renal disease in obesity and diabetes advances in pathogenesis and therapeutics. Lisbon.
5. **Sanz Fernández MV**‡, Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, Vázquez Gómez M, García Contreras C, Fermín Rodríguez ML, Astiz S, González Bulnes A. 2017. Effects of low birth weight on the immune function of Iberian piglets. 4th Fatty Pigs Conference. España.

6. Vázquez Gómez M<sup>‡</sup>, García Contreras C, Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, Sanz Fernández MV, Astiz S, Óvilo C, Isabel B, González Bulnes A. 2017. Effects of nutritional pregnancy management on carcass and meat features of offspring: Implications for the production of dry-cured products. 4th Fatty Pigs Conference. España.
  
7. García Contreras C, Vázquez Gómez M, Torres Rovira L, **Pesántez Pacheco JL**, Astiz S, González Bulnes A<sup>‡</sup>. 2018. Effects of maternal metformin supplementation on prenatal growth and metabolism of offspring. 3<sup>rd</sup> ISANH Middle East World Congress. Amman Antioxidants. Jordania.
  
8. **Pesántez Pacheco JL**, Torres Rovira L, Sanz Fernández MV, Molina Heras A, Pérez N, Vázquez Gómez M, García Contreras C\*, Feyjoo P, Cáceres E, Frias M, Mateos S, Hernández F, González Martin JV, González Bulnes A, Astiz S. Effects of maternal factors during pregnancy on the birth weight of lambs in dairy sheep. 66th EAAP. European Federation of Animal Science. Book of abstracts No. 24. Croatia.
  
9. **Pesántez Pacheco JL**, Heras Molina A, Torres Rovira L, Hernández F, Sanz Fernández MV, Pérez Villalobos N, García Contreras C, Vázquez Gómez M, Martínez Ros M, González Martin JV\*, González Bulnes A, Astiz S. 2018. Observational study on a novel management system involving 10 lambings per year in one high-yield dairy ewe farm. The 30th World Buiatrics Congress. Japón.
  
10. **Pesántez Pacheco JL**, Torres Rovira L, Sanz Fernández MV, Heras Molina A, Pérez Villalobos N, García Contreras N, Vázquez Gómez M, Hernández F, González Martin JV\*, González Bulnes A, Astiz S. Effects of maternal factors on the metabolic profile throughout pregnancy in dairy sheep. 2018. The 30th World Buiatrics Congress. Japón.
  
11. Sanz Fernández MV, **Pesántez Pacheco JL**, Torres Rovira L, Vázquez Gómez M, García Contreras C, Heras Molina A, Pérez Villalobos N, Hernández F, González Martin JV<sup>‡</sup>, González Bulnes A, Astiz S. Gestational toxemia in

lactating sheep is associated with alterations in circulating inflammatory biomarkers. The 30th World Buiatrics Congress. Japón.

12. **Pesántez Pacheco JL**, Heras Molina A<sup>‡</sup>, Torres Rovira L, Sanz Fernández MV, García Contreras C, Vázquez Gómez M, Feyjoo P, Cáceres E, Mateos M, Hernández F, Vázquez Mosquera J, Martínez Ros P, González Martín JV, González Bulnes A, Astiz S. 2019. Factores maternos (nivel de producción) y el efecto sobre el peso al nacimiento de sus corderos en ovejas lecheras. AIDA. XVIII Jornadas sobre Producción Animal. España.

13. **Pesántez Pacheco JL**, Heras Molina A<sup>‡</sup>, Torres Rovira L, Sanz Fernández MV, García Contreras C, Vázquez Gómez M, Feyjoo P, Cáceres E, Mateos M, Hernández F, Vázquez Mosquera J, Martínez Ros P, González Martín JV, González Bulnes A, Astiz S. 2019. Efecto de factores maternos (edad y metabolismo) y número y peso de los corderos sobre el nivel de producción lechera subsiguiente. AIDA. XVIII Jornadas sobre Producción Animal. España.

14. Feyjoo P, **Pesántez Pacheco JL**, Vázquez Mosquera J, Heras Molina A<sup>‡</sup>, Patrón R, Pérez Villalobos N, González Martín JV, Fargas O, Astiz S. 2019. Evolución productiva de explotaciones lecheras a partir de la introducción de inseminación artificial a tiempo fijo en primera inseminación y del sistema de cama volteada. AIDA. XVIII Jornadas sobre Producción Animal. España.

15. Heras Molina A<sup>‡</sup>, Vázquez Gómez M, García Contreras C, Sanz Fernández V, Torres Rovira L, Segura Plaza J, **Pesántez Pacheco JL**, Astiz S, Óvilo C, González Bulnes A, Isabel B. 2019. Efecto del genotipo en la composición de ácidos grasos de la grasa visceral en porcino. AIDA. XVIII Jornadas sobre Producción Animal. España.

16. Vázquez Mosquera J\*, Villagrà A, Gardón JC, **Pesántez Pacheco JL**, Martínez D, Heras Molina A, González Martín JV, Sebastián F, Astiz S. 2019. Efecto de una dieta rica en oleínas sobre el perfil graso de la leche de madres

bovinas de raza cárnicas y la influencia del número de partos y días en lactación. AIDA. XVIII Jornadas sobre Producción Animal. España.

17. Martínez D<sup>‡</sup>, Vázquez Mosquera J, Bonet Bo M, Villagrà A, Gardón JC, **Pesántez Pacheco JL**, Pérez Garnelo SS, Sebastián F, González Martín JV, Astiz S. 2019. Resultados del primer año del programa de MOET aplicado a un rebaño español de vacas de raza Wagyu pura. XXIV Congreso internacional Anembe. España

18. Pérez Garnelo SS\*, Vázquez J, **Pesántez Pacheco JL**, Heras Molina A, Villagrà A, Gardón JC, Martínez D, Sebastián F, González Martín JV, Astiz S. 2019. Congelación de semen obtenido mediante electroeyaculación en toros Wagyu y Angus, con el empleo de dos diluyentes comerciales, resultado preliminares. XXIV Congreso internacional Anembe. España.

19. Feyjoo P, **Pesántez Pacheco JL**, Vázquez Mosquera J\*, Heras Molina A, Patrón R, Pérez Villalobos N, González Martín JV, Fargas O, Astiz S. 2019. Evolución durante 10 años (2008-2017) de los parámetros reproductivos en granjas lecheras de alta producción tras la implementación sistemática de IATF a primera inseminación y del sistema de camas compostadas. XXIV Congreso internacional Anembe. España.



## 8.2 Anexo 2: Material suplementario estudio II

Influence of maternal factors (weight, body condition, parity, and pregnancy rank) on plasma metabolites of dairy ewes and their lambs.

**Table S1.** Morphometric measurements and metabolic status of lambs born to mature or to maiden sheep and of lambs born to sheep with single or multiple pregnancies at a commercial, high yielding, Lacaune dairy sheep farm.

	Mature ewes		Maiden sheep		Single pregnancy		Multiple pregnancy	
	Singleton pregnancy	Multiple pregnancy	Singleton pregnancy	Multiple pregnancy	Mature ewes	Maiden sheep	Mature ewe	Maiden sheep
	(n=80)	(n=237)	(n=83)	(n=141)	(n=80)	(n=83)	(n=237)	(n=141)
Birth body weight, kg	4.63 ± 0.81 <sup>a</sup>	4.12 ± 0.80 <sup>b</sup>	3.94 ± 0.86 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.78 <sup>b</sup>	4.63 ± 0.81 <sup>a</sup>	3.94 ± 0.86 <sup>b</sup>	4.12 ± 0.80 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.78 <sup>b</sup>
Body weight, 17d*, kg	9.03 ± 2.05	8.72 ± 2.06	7.13 ± 1.71 <sup>a</sup>	6.61 ± 1.57 <sup>b</sup>	9.03 ± 2.05 <sup>a</sup>	7.13 ± 1.71 <sup>b</sup>	8.72 ± 2.06 <sup>a</sup>	6.61 ± 1.57 <sup>b</sup>
Average daily weight gain, kg	0.239 ± 0.07	0.246 ± 0.07	0.220 ± 0.08	0.212 ± 0.05	0.239 ± 0.07	0.220 ± 0.08	0.246 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.212 ± 0.05 <sup>b</sup>
Birth trunk length, cm	30.70 ± 1.79 <sup>a</sup>	29.66 ± 2.06 <sup>b</sup>	29.24 ± 2.22 <sup>a</sup>	27.53 ± 2.52 <sup>b</sup>	30.70 ± 1.79 <sup>a</sup>	29.24 ± 2.22 <sup>b</sup>	29.66 ± 2.06 <sup>a</sup>	27.53 ± 2.52 <sup>b</sup>
Trunk length 17d*, cm	39.93 ± 3.46 <sup>g</sup>	38.92 ± 3.65 <sup>h</sup>	35.74 ± 3.17	34.65 ± 3.15	39.93 ± 3.46 <sup>a</sup>	35.74 ± 3.17 <sup>b</sup>	38.92 ± 3.65 <sup>a</sup>	34.65 ± 3.15 <sup>b</sup>
Birth BMI-1, kg/m <sup>2</sup>	49.03 ± 7.53 <sup>a</sup>	46.51 ± 6.59 <sup>b</sup>	45.57 ± 6.09 <sup>c</sup>	42.84 ± 5.80 <sup>d</sup>	49.03 ± 7.53 <sup>a</sup>	45.57 ± 6.09 <sup>b</sup>	46.51 ± 6.59 <sup>a</sup>	42.84 ± 5.80 <sup>b</sup>
BMI-2, 17d*, kg/m <sup>2</sup>	56.24 ± 9.04	57.20 ± 9.85	55.77 ± 12.07	54.87 ± 10.10	56.24 ± 9.04	55.77 ± 12.07	57.20 ± 9.85 <sup>e</sup>	54.87 ± 10.10 <sup>f</sup>
Thoracic girth, 17 d*, cm	46.21 ± 3.89	45.67 ± 3.98	42.71 ± 3.86	41.77 ± 3.44	46.21 ± 3.89 <sup>a</sup>	42.71 ± 3.86 <sup>b</sup>	45.67 ± 3.98 <sup>a</sup>	41.77 ± 3.44 <sup>b</sup>
Abdominal girth, 17d*, cm	46.62 ± 4.34	45.62 ± 4.80	42.87 ± 4.27 <sup>e</sup>	41.23 ± 4.10 <sup>f</sup>	46.62 ± 4.34 <sup>a</sup>	42.87 ± 4.27 <sup>b</sup>	45.62 ± 4.80 <sup>a</sup>	41.23 ± 4.10 <sup>b</sup>
<b>Metabolic features at 17 d-old</b>								
Glucose (mg/dl)	122.1 ± 29.20	121.4 ± 23.21	124.1 ± 29.81	120.0 ± 23.69	122.1 ± 29.20	124.1 ± 29.81	121.4 ± 23.21	120.0 ± 23.69
Lactate (mg/dl)	18.7 ± 3.96	18.9 ± 5.71	19.8 ± 6.33	20.1 ± 5.03	18.7 ± 3.96	19.8 ± 6.33	18.9 ± 5.71 <sup>e</sup>	20.1 ± 5.03 <sup>f</sup>
Cholesterol (mg/dl)	93.5 ± 17.43	94.4 ± 18.30	93.5 ± 19.44	93.3 ± 20.90	93.5 ± 17.43	93.5 ± 19.44	94.4 ± 18.30	93.3 ± 20.90
Triglycerides (mg/dl)	50.5 ± 24.53	56.2 ± 35.61	58.3 ± 29.19	63.6 ± 37.30	50.5 ± 24.53	58.3 ± 29.19	56.2 ± 35.61 <sup>g</sup>	63.6 ± 37.30 <sup>h</sup>
β-OHB (mmol/L)	0.126 ± 0.06	0.134 ± 0.07	0.135 ± 0.07	0.136 ± 0.07	0.126 ± 0.06	0.135 ± 0.07	0.134 ± 0.07	0.136 ± 0.07
NEFA (mmol/L)	0.541 ± 0.16	0.542 ± 0.17	0.498 ± 0.13	0.530 ± 0.17	0.541 ± 0.16	0.498 ± 0.13	0.542 ± 0.17	0.530 ± 0.17
Urea (mg/dl)	34.1 ± 8.30	33.9 ± 10.50	31.4 ± 6.87	31.3 ± 7.41	34.1 ± 8.30 <sup>g</sup>	31.4 ± 6.87 <sup>h</sup>	33.9 ± 10.50 <sup>e</sup>	31.3 ± 7.41 <sup>f</sup>

\*: the age of lambs at the second measurement was 17 ± 5 days of age. BMI: Body Mass Index; β-OHB: β-hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids. Data are expressed as means values ± S.D. Different superscripts within a row denote statistically significant differences (a≠b  $p<0.0001$ ; c≠d  $p<0.001$ ; e≠f  $p<0.01$ ; g≠h  $p<0.05$ ).

**Table S2.** Morphometric measurements and metabolic status of lambs born to sheep categorized by Body Condition Score measured at mid pregnancy (BCS-1) and late pregnancy (BCS-2) at a commercial, high yielding, dairy Lacaune sheep farm.

	Lambs born to mothers classified by BCS determined at mid-pregnancy (BCS-1)			Lambs born to mothers classified by BCS determined at late-pregnancy (BCS-2)		
	Thin (BCS≤2)	Average (3>BCS>2)	Fat (BCS≥3)	Thin (BCS≤2)	Average (3>BCS>2)	Fat (BCS≥3)
	(n=103)	(n=303)	(n=133)	(n=59)	(n=295)	(n=185)
Birth body weight, kg	3.96 ± 0.91 <sup>cd</sup>	3.85 ± 0.90 <sup>c</sup>	4.18 ± 0.91 <sup>d</sup>	3.82 ± 0.87 <sup>a</sup>	3.81 ± 0.89 <sup>a</sup>	4.23 ± 0.93 <sup>b</sup>
Body weight, 17d*, kg	8.28 ± 2.37	7.83 ± 1.99	8.09 ± 2.22	7.04 ± 2.00 <sup>a</sup>	7.70 ± 1.96 <sup>a</sup>	8.67 ± 2.23 <sup>b</sup>
Average daily weight gain, kg	0.237 ± 0.07	0.229 ± 0.07	0.236 ± 0.08	0.222 ± 0.07	0.233 ± 0.08	0.234 ± 0.07
Birth trunk length, cm	28.90 ± 2.49 <sup>a</sup>	28.99 ± 2.40 <sup>a</sup>	29.95 ± 2.27 <sup>b</sup>	28.79 ± 2.45 <sup>a</sup>	28.79 ± 2.51 <sup>a</sup>	29.99 ± 2.06 <sup>b</sup>
Trunk length 17d*, cm	37.78 ± 4.45	37.20 ± 3.97	37.92 ± 3.58	36.12 ± 3.34 <sup>a</sup>	36.67 ± 3.76 <sup>a</sup>	39.07 ± 3.63 <sup>b</sup>
Birth BMI-1, kg/m <sup>2</sup>	46.75 ± 6.70	45.36 ± 6.96	46.11 ± 6.28	45.62 ± 7.04 <sup>gh</sup>	45.45 ± 6.58 <sup>g</sup>	46.44 ± 6.93 <sup>h</sup>
BMI-2, 17d*, kg/m <sup>2</sup>	57.04 ± 10.22	56.18 ± 10.02	55.65 ± 10.36	53.33 ± 9.38	56.92 ± 10.61	56.12 ± 9.63
Thoracic girth, 17 d*, cm	44.97 ± 4.82	44.13 ± 3.98	44.16 ± 4.21	42.28 ± 4.27	43.92 ± 4.00	45.39 ± 4.23
Abdominal girth, 17d*, cm	45.12 ± 5.85	43.94 ± 4.52	44.18 ± 4.90	41.84 ± 4.90 <sup>g</sup>	43.66 ± 4.59 <sup>h</sup>	45.69 ± 4.96 <sup>i</sup>
<b>Metabolic features at 17 d-old</b>						
Glucose (mg/dl)	125.4 ± 29.60	120.6 ± 22.65	120.6 ± 27.65	124.5 ± 30.81	120.7 ± 22.52	122.1 ± 27.85
Lactate (mg/dl)	19.0 ± 5.28	19.1 ± 5.43	19.9 ± 5.52	19.8 ± 5.26	19.3 ± 5.24	19.2 ± 5.80
Cholesterol (mg/dl)	95.1 ± 18.38	94.7 ± 19.06	90.7 ± 19.17	92.6 ± 23.07	93.2 ± 18.07	95.1 ± 19.18
Triglycerides (mg/dl)	59.8 ± 40.44	59.2 ± 33.13	52.2 ± 29.72	57.7 ± 30.79	59.6 ± 36.98	54.1 ± 28.98
β-OHB (mmol/L)	0.118 ± 0.06 <sup>e</sup>	0.129 ± 0.06 <sup>e</sup>	0.154 ± 0.09 <sup>f</sup>	0.131 ± 0.08 <sup>g</sup>	0.130 ± 0.08 <sup>g</sup>	0.140 ± 0.06 <sup>h</sup>
NEFA (mmol/L)	0.519 ± 0.16	0.542 ± 0.18	0.521 ± 0.14	0.554 ± 0.18	0.521 ± 0.16	0.541 ± 0.17
Urea (mg/dl)	34.4 ± 11.37	32.5 ± 8.18	32.6 ± 8.86	31.3 ± 7.35	32.1 ± 7.65	34.4 ± 11.03

\*: the age of lambs at the second measurement was 17 ± 5 days of age. BMI: Body Mass Index; β-OHB: β-hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids. Data are expressed as means values ± S.D. Different superscripts within a row denote statistically significant differences (a≠b  $p < 0.0001$ ; c≠d  $p < 0.001$ ; e≠f  $p < 0.005$ ; g-i  $p < 0.05$ ).

**Table S3.** Estimates of Pearson correlation coefficients between the birth weight of lambs and the metabolomics of their mothers at mid gestation ( $75 \pm 5$  d of pregnancy), classified by the age of mother (mature vs. maiden sheep); by pregnancy rank (single vs. multiple); by maternal Body Condition Score mid pregnancy (BCS-1), by BCS at late pregnancy (BCS-2), at a commercial, high yielding, dairy Lacaune sheep farm.

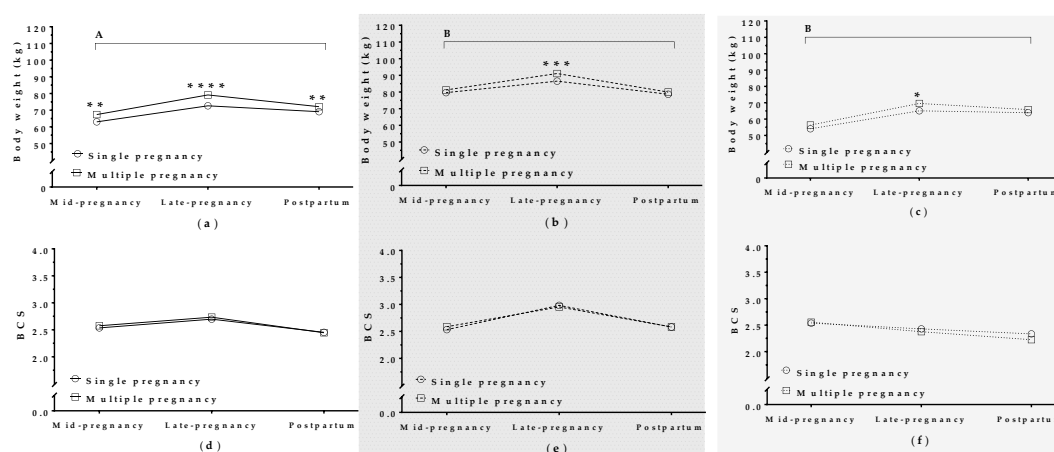
Birth weight of lambs born to		Maternal metabolomics at mid-pregnancy ( $75 \pm 5$ d of pregnancy)						
		GLU	LAC	CHO	TGL	$\beta$ -OHB	NEFA	UR
	n	r	r	r	r	r	r	r
All sheep	558	0.080 *		0.166 ****		0.212 *****	-0.087 *	0.248 *****
Mature ewes	338							
Maiden sheep	220	0.190 **						
Sheep with single pregnancy	167			0.142 †	0.152 *	0.147 †		0.308 ****
Sheep with multiple pregnancy	391			0.177 ****		0.265 *****	-0.116 *	0.258 *****
<b>Lambs born to mothers classified by BCS determined at mid-pregnancy (BCS-1)</b>								
Thin (BCS $\leq 2$ )	105		-0.164 †			0.172 †		0.220 *
Average ( $3 > \text{BCS} > 2$ )	317	0.138 *		0.217 ****		0.223 *****		0.228 *****
Fat-BCS $\geq 3$	136			0.165 *	0.208 *	0.262 **		0.361 *****
<b>Lambs born to mothers classified by BCS determined at late-pregnancy (BCS-2)</b>								
Thin (BCS $\leq 2$ )	62				0.239 †	0.222 †		0.265 *
Average ( $3 > \text{BCS} > 2$ )	297			0.110 †		0.178 ***		0.264 *****
Fat-BCS $\geq 3$	199			0.145 *		0.118 †	-0.126 †	0.122 †

GLU: Glucose; LAC: Lactate; CHO: Cholesterol; TGL: Triglycerides;  $\beta$ -OHB:  $\beta$ -hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids; UR: Urea. Asterisks indicate significant correlation: (\*\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*  $p < 0.005$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ; †= tendency).

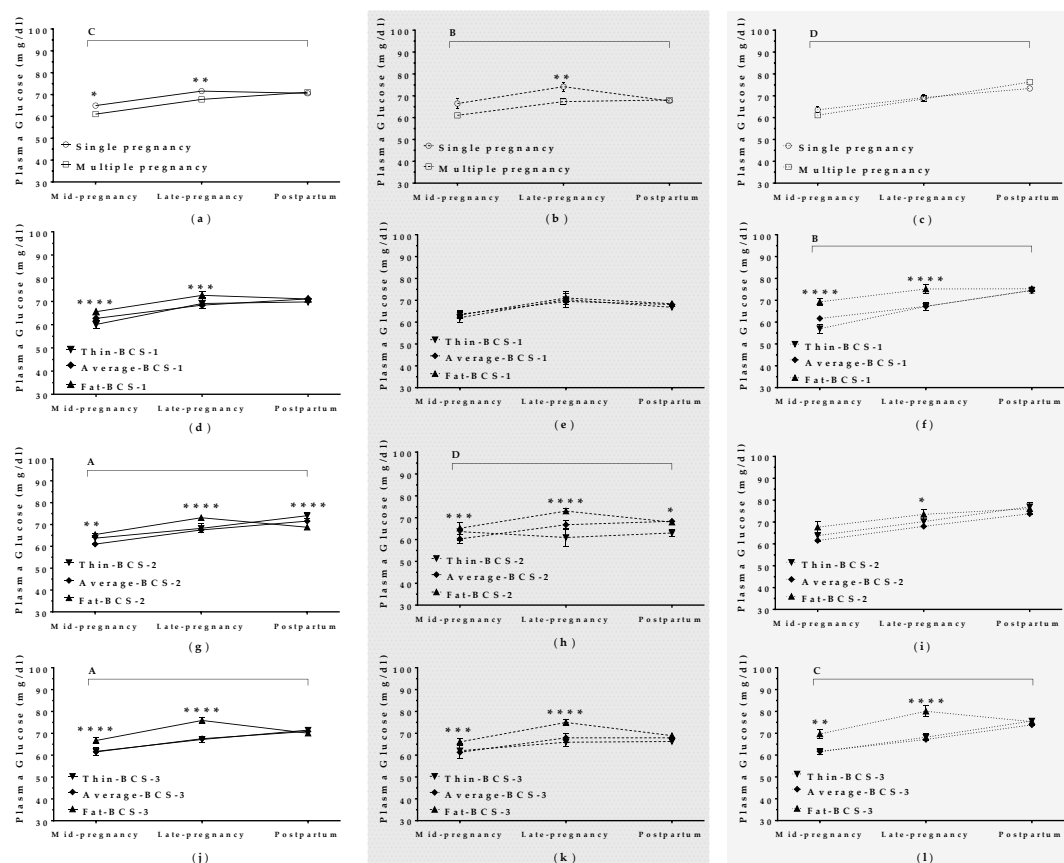
**Table S4.** Estimates of Pearson correlation coefficients between the birth weight of lambs and the metabolomics of their mothers at late gestation ( $142 \pm 4$  d of pregnancy) classified by the age of mother (mature vs. maiden sheep); by pregnancy rank (single vs. multiple); by maternal Body Condition Score mid pregnancy (BCS-1), by BCS at late pregnancy (BCS-2), at a commercial, high yielding, dairy Lacaune sheep farm.

		Maternal metabolomics at late-pregnancy ( $142 \pm 4$ d of pregnancy)						
Birth weight of lambs born to		GLU	LAC	CHO	TGL	$\beta$ -OHB	NEFA	UR
	n	r	r	r	r	r	r	r
All sheep	569			0.182 ****	0.121 **			
Mature ewes	338					-0.112 *	-0.151 **	
Maiden sheep	231	0.157 *		0.122 †	0.289 ****			-0.136 *
Sheep with single pregnancy	168			0.152 *				
Sheep with multiple pregnancy	401			0.175 ****	0.130 **			-0.149 **
<b>Lambs born to mothers classified by BCS determined at mid-pregnancy (BCS-1)</b>								
Thin (BCS $\leq 2$ )	105			0.182 †				
Average ( $3 > \text{BCS} > 2$ )	323			0.162 **	0.100 †			-0.102 †
Fat-BCS $\geq 3$	141			0.231 **				
<b>Lambs born to mothers classified by BCS determined at late-pregnancy (BCS-2)</b>								
Thin (BCS $\leq 2$ )	62					0.356 **		
Average ( $3 > \text{BCS} > 2$ )	308			0.168 **	0.102 †			
Fat-BCS $\geq 3$	199	0.125 †		0.132 †		-0.158 *	-0.174 **	

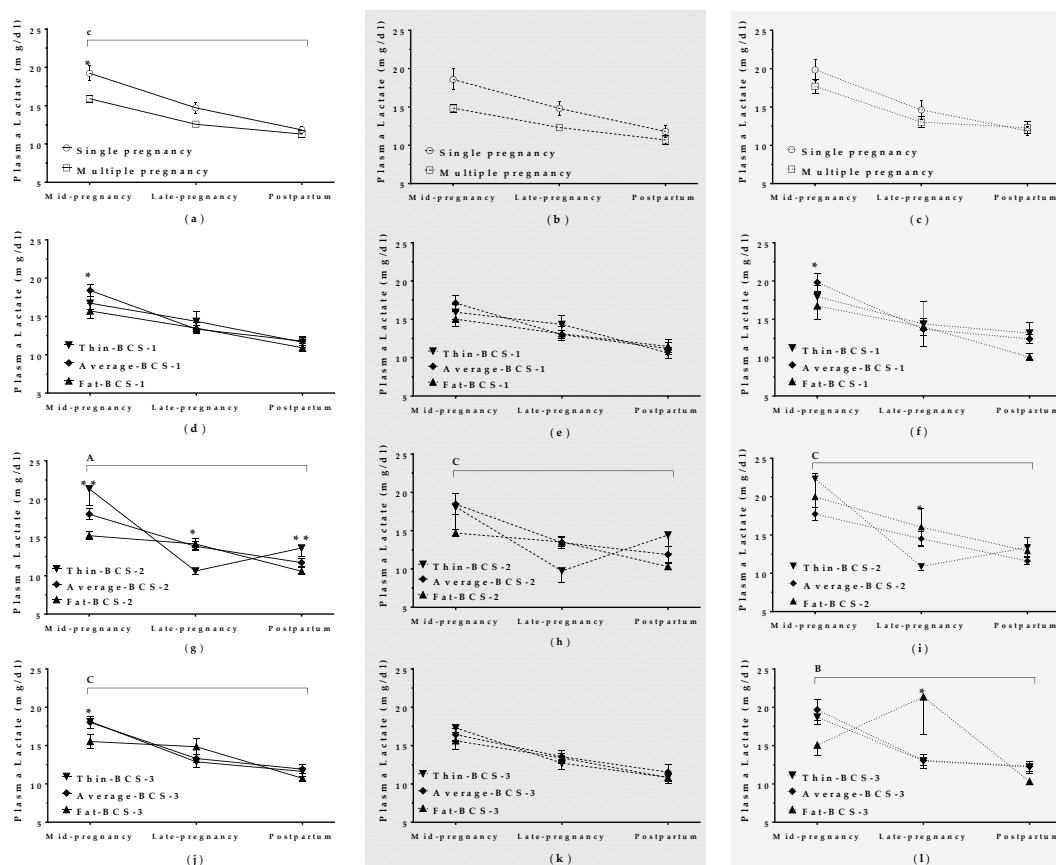
GLU: Glucose; LAC: Lactate; CHO: Cholesterol; TGL: Triglycerides;  $\beta$ -OHB:  $\beta$ -hydroxybutyrate; NEFA: non-esterified fatty acids; UR: Urea. Asterisks indicate significant correlation: (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ; †=tendency).



**Figure S1:** Body weight (in kg; top panels a, b, and c,) and Body Condition Score (BCS; bottom panels d, e and f) are shown for all ewes (left panels, a and d), mature ewes (central panels, b and e) and maiden sheep (right panels, c and f) throughout the study period. Animals were classified by pregnancy rank (single ○; and multiple □). Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the time  $\times$  pregnancy rank interaction is represented in panels by an upper horizontal line and capital letters indicating the significance level (A:  $p < 0.001$ ; B:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between single or multiple pregnancy at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

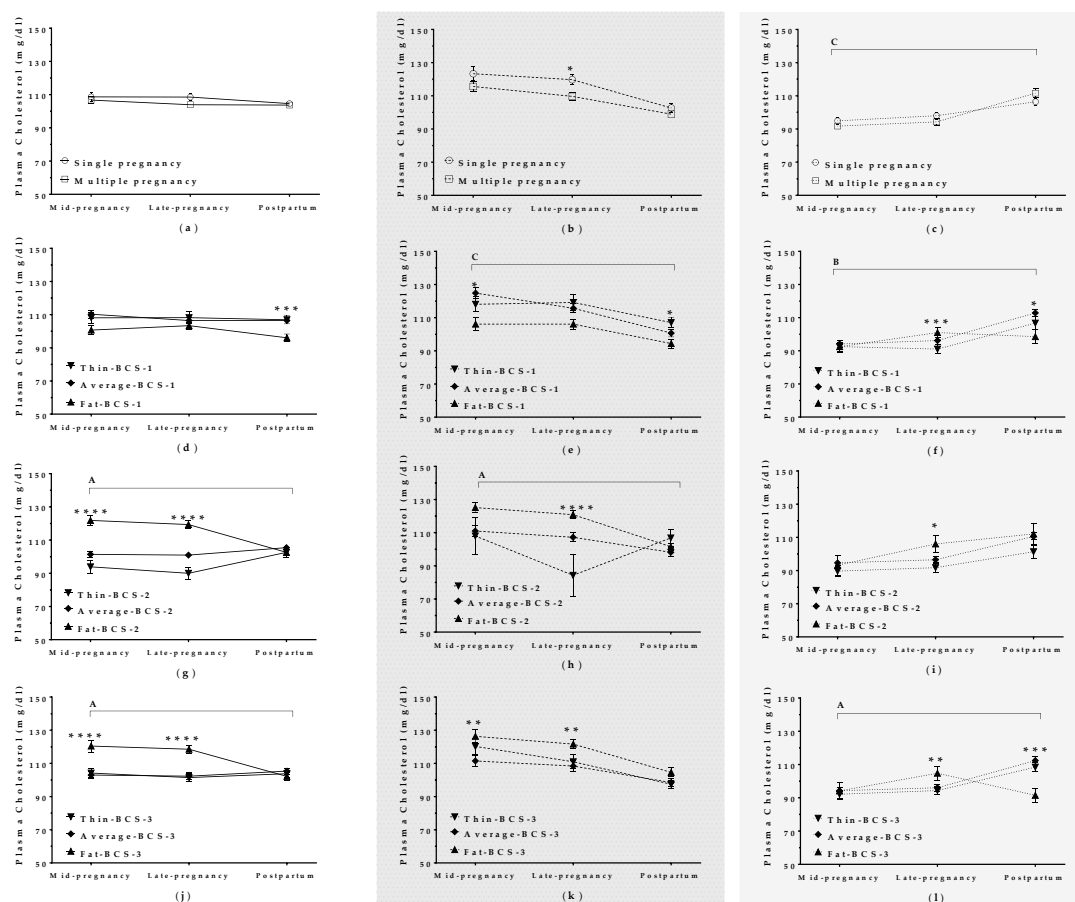


**Figure S2:** Plasma glucose concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Ewes were classified by pregnancy rank (single  $\circ$  or multiple  $\square$ ; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS levels were “Thin” ( $\blacktriangledown$ ) for sheep with a BCS  $\leq 2$ , “Average” ( $\blacklozenge$ ) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” ( $\blacktriangle$ ) for sheep with BCS  $\geq 3$ . Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, interactions of time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.01$ ; D:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

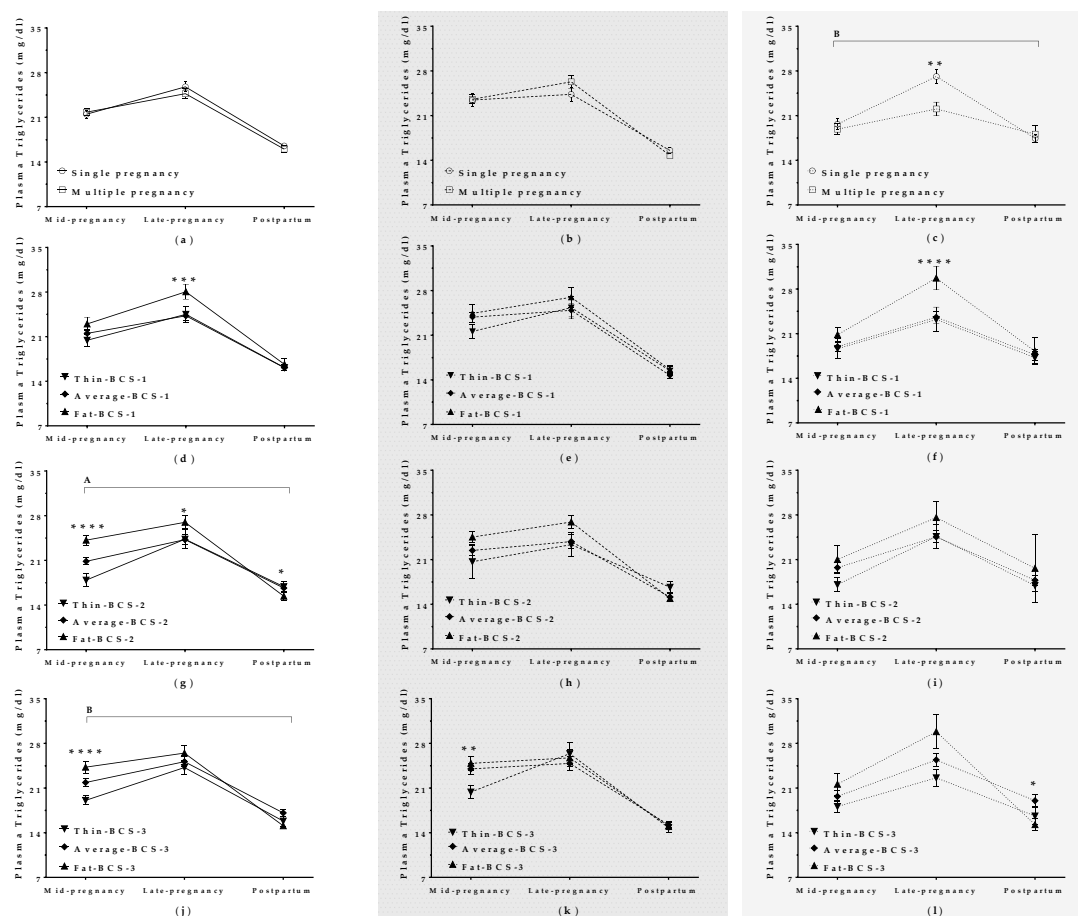


**Figure S3:** Plasma lactate concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single  $\circ$  or multiple  $\square$ ; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS levels were “Thin” ( $\blacktriangledown$ ) for sheep with  $\text{BCS} \leq 2$ , “Average” ( $\blacklozenge$ ) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” ( $\blacktriangle$ ) for sheep with  $\text{BCS} \geq 3$ . Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the interactions of time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.05$ ; and c: tendency). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

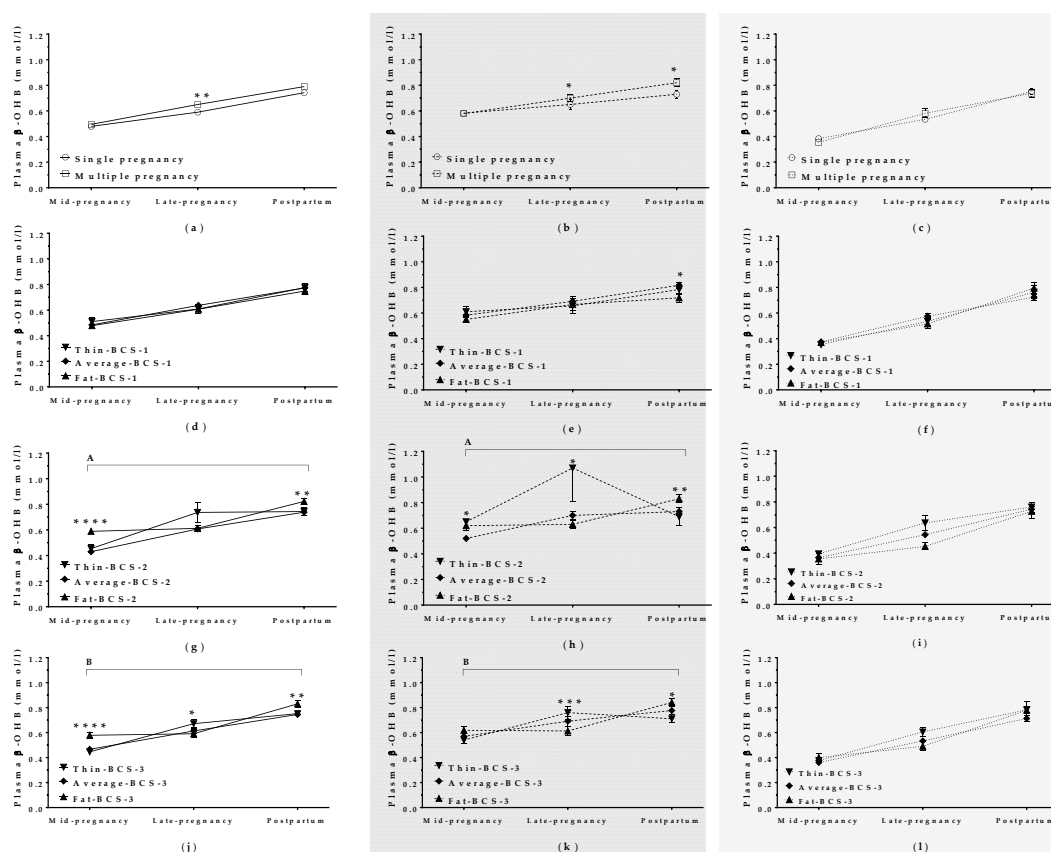




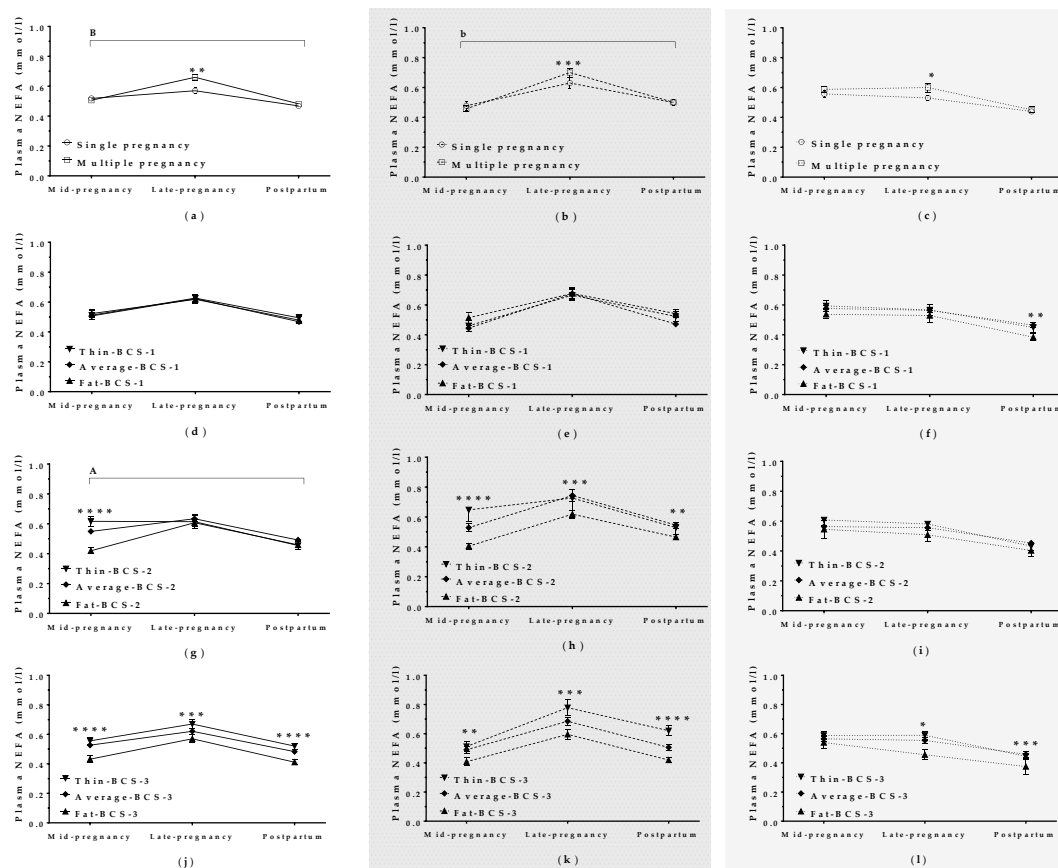
**Figure S4:** Plasma cholesterol concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single  $\circ$  or multiple,  $\square$ ; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS level was “Thin” ( $\blacktriangledown$ ) for sheep with  $\text{BCS} \leq 2$ , “Average” ( $\blacklozenge$ ) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” ( $\blacktriangle$ ) for sheep with  $\text{BCS} \geq 3$ . Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the interactions time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel by an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).



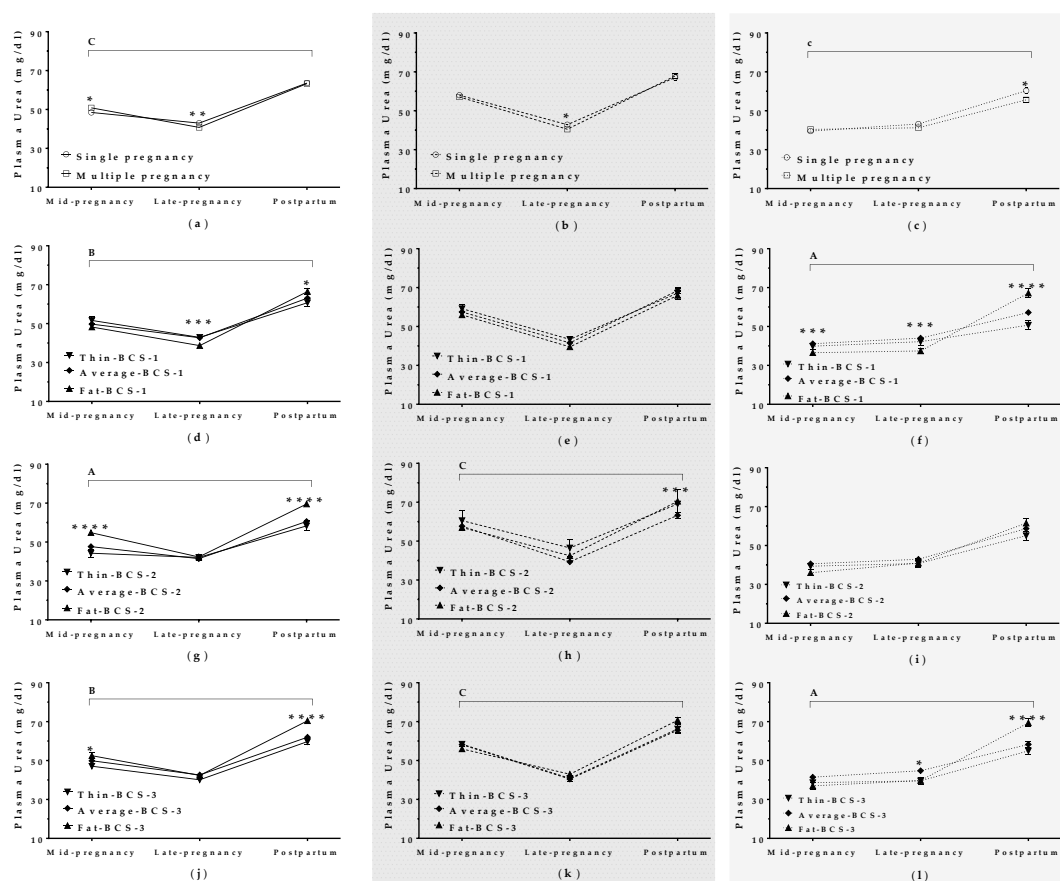
**Figure S5:** Plasma triglyceride concentrations (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single ○ or multiple □; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS levels were “Thin” (▼) for sheep with a BCS ≤ 2, “Average” (◆) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” (▲) for sheep with  $\text{BCS} \geq 3$ . Data are mean ± S.E.M. When significant, the interactions of time × pregnancy rank or time × BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.001$ ; B:  $p < 0.01$ ). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).



**Figure S6:** Concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -OHB) in plasma (mmol/l) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single  $\circ$  or multiple  $\square$ ; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS levels were “Thin” ( $\blacktriangledown$ ) for sheep with a BCS  $\leq 2$ , “Average” ( $\blacklozenge$ ) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” ( $\blacktriangle$ ) for sheep with  $\text{BCS} \geq 3$ . Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the interactions time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ). Asterisks indicate significant differences between mid-groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).



**Figure S7:** Concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA) in plasma (mmol/l) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single  $\circ$  or multiple  $\square$ ; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS levels were “Thin” ( $\blacktriangledown$ ) for sheep with a BCS  $\leq 2$ , “Average” ( $\blacklozenge$ ) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” ( $\blacktriangle$ ) for sheep with BCS  $\geq 3$ . Data are mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the interactions time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel by an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; and b: tendency). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).



**Figure S8:** Plasma urea concentration (mg/dl) in all ewes (left panels column, a, d, g and j), mature ewes (central panels column, b, e, h and k) and maiden sheep (right panels column, c, f, i and l) throughout the study period. Sheep were classified by pregnancy rank (single  $\circ$  or multiple,  $\square$ ; top row of panels a, b and c) and by level of BCS measured at mid-pregnancy (BCS-1, second row of panels d, e and f), late pregnancy (BCS-2; third row of panels g, h and i) and postpartum (BCS-3; bottom row of panels j, k and l). BCS levels were “Thin” ( $\blacktriangledown$ ) for sheep with a BCS  $\leq 2$ , “Average” ( $\blacklozenge$ ) for sheep with  $2 < \text{BCS} < 3$ , and “Fat” ( $\blacktriangle$ ) for sheep with BCS  $\geq 3$ . When significant, the interactions time  $\times$  pregnancy rank or time  $\times$  BCS level are represented in each panel with an upper horizontal line and capital letters indicating significance level (A:  $p < 0.0001$ ; B:  $p < 0.001$ ; C:  $p < 0.05$ ; and c: tendency). Asterisks indicate significant differences between groups at each time point (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ).

Maternal metabolic demands caused by pregnancy and lactation: Association with productivity and offspring phenotype in high-yielding dairy ewes.

**Table S1.** Estimates of Pearson correlation coefficients between lamb birth weight and maternal milk yield in mature ewes stratified by single vs. multiple pregnancies and by BCS score at different stages of pregnancy.

Lambs born to: ↓	n	Stage of pregnancy of mature ewes			
		Month of conception (YDIMc)	Second month of pregnancy	Third month of pregnancy	Conception to drying off (YDIMd)
All mature ewes	340	0.115 *	N/S	N/S	N/S
Single pregnancy	83	N/S	N/S	N/S	N/S
Multiple pregnancy	257	0.198 ****	N/S	N/S	0.128 *
<b>Maternal BCS at mid-pregnancy †</b>					
Thin (BCS ≤2)	68	N/S	N/S	N/S	N/S
Average (3>BCS>2)	180	N/S	N/S	N/S	N/S
Fat-BCS≥3	92	0.290 ***	0.277 **	0.313 ***	0.337 ****
<b>Maternal BCS at mid-pregnancy ‡</b>					
Thin (BCS ≤2)	26	N/S	N/S	N/S	N/S
Average (3>BCS>2)	133	0.226 **	N/S	N/S	0.175 *
Fat-BCS≥3	181	N/S	N/S	N/S	N/S

† 75 ± 5 d of pregnancy

‡ 142 ± 4 d of pregnancy

BCS, body condition score; YDIMc, Yield per day in milk during the month of conception; YDIMd, Yield per day in milk from conception to drying off; N/S, not significant.

\*\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*  $p < 0.005$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$

**Table S2.** Estimates of Pearson correlation coefficients between lamb birth weight and maternal metabolite levels at mid-pregnancy (above) or late pregnancy (below) in mature ewes showing low, average, or high milk yield.

Mid-pregnancy (75 ± 5d of pregnancy)								
Maternal milk yield ↓	n	GLU	LAC	CHO	TGL	β-OHB	NEFA	UR
L-TMY	80	-0.192 †	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
A-TMY	129	0.176 *	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
H-TMY	129	N/S	0.160 †	0.182 *	-0.176 *	N/S	N/S	N/S
L-YDIMd	79	N/S	0.240 *	N/S	0.245 *	N/S	N/S	N/S
A-YDIMd	136	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
H-YDIMd	123	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
L-YDIMc	89	N/S	N/S	N/S	0.202 †	N/S	N/S	N/S
A-YDIMc	130	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
H-YDIMc	119	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	0.233 **	N/S
Late-pregnancy (142 ± 4d of pregnancy)								
Maternal milk yield ↓	n	GLU	LAC	CHO	TGL	β-OHB	NEFA	UR
L-TMY	80	-0.292 **	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
A-TMY	129	0.215 **	N/S	N/S	N/S	-0.200 *	-0.163 †	N/S
H-TMY	129	N/S	N/S	N/S	N/S	-0.250 **	-0.214 *	N/S
L-YDIMd	79	N/S	N/S	N/S	N/S	-0.200 †	N/S	N/S
A-YDIMd	136	N/S	-0.191 *	N/S	N/S	-0.146 †	-0.248 **	N/S
H-YDIMd	123	N/S	N/S	0.173 *	N/S	-0.299 ***	N/S	N/S
L-YDIMc	89	0.238 *	N/S	0.220 *	N/S	-0.248 *	-0.181 †	N/S
A-YDIMc	130	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	-0.187 *	N/S
H-YDIMc	119	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S

β-OHB, β-hydroxybutyrate; CHO, Cholesterol; GLU, Glucose; LAC, Lactate; NEFA, non-esterified fatty acids; TGL, Triglycerides; UR, Urea; TMY, Total milk yield; YDIMd, Yield per day in milk from conception to drying off; YDIMc, Yield per day in milk during the month of conception; N/S, not significant. \*\*\*  $p < 0.005$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ; †  $0.09 < p < 0.05$ .

**Table S3.** Estimates of Pearson correlation coefficients between milk yield during concurrent gestation and lactation and milk yield during the subsequent lactation in mature ewes with single or multiple pregnancies.

		n	r
<b>Pregnancy rank</b>			
Single		86	0.662*
Multiple		132	0.604*
<b>Gender of offspring</b>			
Single	Male	40	0.705*
	Female	46	0.599*
Male + Female		75	0.581*
Multiple	Female + Female	36	0.596*
	Male + Male	21	0.638*

\*  $p < 0.0001$